

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公表特許公報 (A)

(11)特許出願公表番号

特表2003-509692

(P2003-509692A)

(43)公表日 平成15年3月11日 (2003.3.11)

(51)Int.Cl.⁷

G 0 1 N 22/00
33/53

識別記号

F I

テマコード* (参考)

G 0 1 N 22/00
33/53

Z
T

審査請求 有 予備審査請求 有 (全 88 頁)

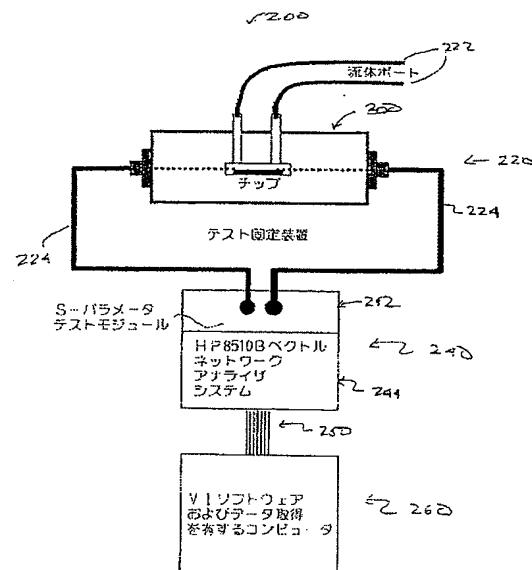
(21)出願番号 特願2001-523864(P2001-523864)
(86) (22)出願日 平成12年7月27日(2000.7.27)
(85)翻訳文提出日 平成14年2月4日(2002.2.4)
(86)国際出願番号 PCT/US00/20470
(87)国際公開番号 WO01/020329
(87)国際公開日 平成13年3月22日(2001.3.22)
(31)優先権主張番号 09/365,978
(32)優先日 平成11年8月2日(1999.8.2)
(33)優先権主張国 米国(US)

(71)出願人 シグネチャー バイオサイエンス, インコ
ーポレイティド
アメリカ合衆国, カリフォルニア 94545
-1130, ハイワード, キャボット ブール
バード 21124
(72)発明者 ヘフティ, ジョン
アメリカ合衆国, カリフォルニア 94131,
サンフランシスコ, トゥエンティエイス
ストリート 226
(74)代理人 弁理士 石田 敬 (外4名)

(54)【発明の名称】 分子結合事象を検出するためのテストシステムおよびセンサ

(57)【要約】

バイオアッセイテストシステムは、テスト固定装置と、測定システムと、コンピュータとを有している。テスト固定装置は、信号経路を備えたバイオアッセイデバイスと、信号経路と電磁的に交信する分子構造を含有するサンプルを配置するように形成された保持構造とを有している。測定システムは、1つまたは複数の予め決められた周波数で、信号経路へテスト信号を伝送し、信号経路からテスト信号を受け取るように形成されている。コンピュータは、測定システムへのテスト信号の伝送と、測定システムからのテスト信号の受信とを制御するように形成されている。



【特許請求の範囲】

【請求項1】 バイオアッセイテストシステムであって、

バイオアッセイテストシステムが、テスト固定装置を有しており、該テスト固定装置が、

信号経路を有するバイオアッセイデバイスと；さらに、

信号経路と電磁的に連絡する分子構造を有するサンプルを配置するようにされた保持構造とを有し；

バイオアッセイテストシステムが、測定システムを有しており、該測定システムが、1つまたは複数の予め決められた周波数で、信号経路へテスト信号を伝送し、信号経路からテスト信号を受け取るようにされており、

バイオアッセイテストシステムが、測定システムに連絡されたコンピュータを有しており、該コンピュータが、測定システムへのテスト信号の伝送と、測定システムからのテスト信号の受信とを制御するようにされていることを特徴とする、バイオアッセイテストシステム。

【請求項2】 測定システムが、ベクトルネットワークアナライザを有しており、該ベクトルネットワークアナライザが、受け取られたテスト信号の大きさおよび位相特性を、伝送されたテスト信号の大きさおよび位相特性と比較するようになっている、請求項1記載の単一経路テストシステム。

【請求項3】 テスト信号が、5Hz～300MHzの範囲内にある信号を含む、請求項2記載の単一経路テストシステム。

【請求項4】 テスト信号が、45MHz～40GHzの範囲内にある信号を含む、請求項2記載の単一経路テストシステム。

【請求項5】 テスト信号が、33GHz～110GHzの範囲内にある信号を含む、請求項2記載の単一経路テストシステム。

【請求項6】 バイオアッセイデバイスが伝送ラインを有している、請求項2記載の単一経路テストシステム。

【請求項7】 バイオアッセイデバイスが曲折した伝送ラインを有している、請求項2記載の単一経路テストシステム。

【請求項8】 バイオアッセイデバイスがリング共鳴器回路を有している、

請求項2記載の单一経路テストシステム。

【請求項9】 バイオアッセイデバイスが容量型ギャップ回路を有している、請求項2記載の单一経路テストシステム。

【請求項10】 バイオアッセイデバイスが誘電性信号経路を有している、請求項2記載の单一経路テストシステム。

【請求項11】 保持構造が、信号経路の一部の周りで解離可能に圧縮されたOリングを有しており、該Oリングが、信号経路と接触するサンプル溶液を保持するようにされている、請求項2記載の单一経路テストシステム。

【請求項12】 単一経路テストシステムがさらに、測定システムと信号経路の第1のポートとの間にカップリングされた入力コネクタと；

測定システムと信号経路の第2のポートとの間にカップリングされた出力コネクタと

を有している、請求項2記載の单一経路テストシステム。

【請求項13】 バイオアッセイアレイテストシステムであって、バイオアッセイアレイテストシステムが、テスト固定装置を有しており、該テスト固定装置が、

複数の信号経路を有するバイオアッセイデバイスと；さらに、

複数の信号経路のそれぞれと電磁的に連絡する分子構造を有するサンプルを配置するようにされた複数の保持構造とを有し；

バイオアッセイアレイテストシステムが、1つまたは複数の予め決められた周波数で複数の信号経路のうちの1つまたは複数の信号経路へ、テスト信号を伝送するようにされた少なくとも1つの出力ポートと、1つまたは複数の予め決められた周波数で複数の信号経路のうちの1つまたは複数の信号経路から、テスト信号を受け取るようにされた少なくとも1つの入力ポートとを備えた測定システムを有しており、

バイオアッセイテストシステムが、測定システムにカップリングされたコンピュータを有しており、該コンピュータが、測定システムへのテスト信号の伝送と、測定システムからのテスト信号の受信とを制御するように形成されている

ことを特徴とする、バイオアッセイアレイテストシステム。

【請求項14】 測定システムが1つの出力ポートと、1つの入力ポートとを有しており、バイオアッセイアレイが、複数の信号経路にカップリングされたN個の入力ポートと、複数の信号経路にカップリングされたM個の出力ポートとを有しており、バイオアッセイシステムがさらに：

測定システム出力ポートにカップリングされた入力と、N個の信号経路入力ポートにカップリングされた出力とを有する $1 \times N$ 入力スイッチと；

M個の信号経路出力ポートにカップリングされた入力と、測定システム入力ポートにカップリングされた出力とを有する $M \times 1$ 出力スイッチと
を有している、請求項13記載のバイオアッセイアレイテストシステム。

【請求項15】 複数のバイオアッセイアレイのそれぞれが、伝送ラインを有している、請求項13記載のバイオアッセイアレイテストシステム。

【請求項16】 複数のバイオアッセイアレイの少なくとも1つが、曲折状の伝送ラインを有している、請求項13記載のバイオアッセイアレイテストシステム。

【請求項17】 複数のバイオアッセイアレイの少なくとも1つが、リング共鳴器回路を有している、請求項13記載のバイオアッセイアレイテストシステム。

【請求項18】 複数のバイオアッセイアレイの少なくとも1つが、容量型ギャップ回路を有している、請求項13記載のバイオアッセイアレイテストシステム。

【請求項19】 複数のバイオアッセイアレイの少なくとも1つが、誘電性信号経路を有している、請求項13記載のバイオアッセイアレイテストシステム。

。

【請求項20】 複数のバイオアッセイアレイの少なくとも1つが、電子切換式のトランジスタを有している、請求項13記載のバイオアッセイアレイテストシステム。

【請求項21】 複数のバイオアッセイアレイの少なくとも1つが、光切換式のトランジスタを有している、請求項13記載のバイオアッセイアレイテスト

システム。

【請求項22】 テスト信号が、5Hz～300MHzの範囲内にある信号から成っている、請求項13記載のバイオアッセイアレイテストシステム。

【請求項23】 テスト信号が、45MHz～40GHzの範囲内にある信号から成っている、請求項13記載のバイオアッセイアレイテストシステム。

【請求項24】 テスト信号が、30GHz～110GHzの範囲内にある信号から成っている、請求項13記載のバイオアッセイアレイテストシステム。

【請求項25】 バイオアッセイデバイスであって、該バイオアッセイデバイスが、

 入力ポートと出力ポートとを有する信号経路と；
 信号経路の少なくとも一部と電磁的に交信する分子構造から成るサンプルを配置するようにされた保持構造と
 から成っていることを特徴とする、バイオアッセイデバイス。

【請求項26】 信号経路が連続的な伝送ラインを有している、請求項25記載のバイオアッセイデバイス。

【請求項27】 信号経路が曲折状の連続的な伝送ラインを有している、請求項25記載のバイオアッセイデバイス。

【請求項28】 信号経路が共鳴キャビティ回路を有している、請求項25記載のバイオアッセイデバイス。

【請求項29】 信号経路が容量型ギャップ回路を有している、請求項25記載のバイオアッセイデバイス。

【請求項30】 信号経路が誘電性信号経路を有している、請求項25記載のバイオアッセイデバイス。

【請求項31】 バイオアッセイアレイデバイスであって、該バイオアッセイアレイデバイスが、

 それぞれ入力ポートと出力ポートとを有する、複数の信号経路と；
 複数の信号経路のそれぞれの少なくとも一部と電磁的に交信する分子構造を有するサンプルを配置するように形成された、それぞれ複数の保持構造と
 を有することを特徴とする、バイオアッセイアレイデバイス。

【請求項32】 各信号経路が、電子切換式のトランジスタを有している、
請求項31記載のバイオアッセイアレイデバイス。

【請求項33】 各信号経路が、光切換式のトランジスタを有している、
請求項31記載のバイオアッセイアレイデバイス。

【発明の詳細な説明】

【0001】

背景

生物医学の事実上どの分野も、化学的かつ生化学的な反応を検定し、特定の被検体の存在および量を見極めるためのシステムを必要とする。このような要求は、基礎科学研究所から生じる。基礎科学研究所では、生化学経路がマッピングされており、生化学経路の機能が疾病経過、臨床診断に相関させられる。臨床診断においては、患者は臨床上該当する被検体のレベルに合わせて手順通りにモニタリングされる。他の分野には、製薬研究、薬物発見用途、DNAテスト、軍事用途、例えば生物戦争の監視、獣医学用途、食品用途および環境的用途が含まれる。これらの事例の全てにおいて、特定の被検体または被検体群の存在および量の測定が必要となる。

【0002】

生薬学、遺伝学、化学、生化学、生物工学、分子生物学、その他多数の分野における分析にとって、1つまたは複数の分子構造の存在を検出し、分子構造間の相互作用を測定することがしばしば有益である。当該分子構造には、細胞、抗体、抗原、代謝産物、タンパク質、薬物、小分子、酵素、核酸、および、他のリガンドおよび被検体が含まれるが、これに限定されるものではない。医学の場合例えば、受容体またはサイトカイン、または、種々の疾患経過のためのマーカーとして働く抗原および抗体のような細胞成分の存在を見極めることが極めて有益である。この細胞成分は生理液中に天然に存在するか、または、システム中に導入されたものである。遺伝学的分析の場合、フラグメントDNAおよびRNAの配列分析が、診断、遺伝学的なテストおよび研究、農業、および、製薬の開発において極めて有益である。

【0003】

分子細胞生物学の状況、および、正常な系および疾患を有する系の理解が急速に発展しているので、発蛍光団または放射性同位元素のような標識を必要としない、量的かつ質的であり、当該分子に対して特定的であり、高感度を有する、比較的簡単に実施できる検出方法に対する要求が増大している。オーファンドラッ

グ受容体のような多くの周知の標的、および、利用可能になったより多くの標的は、既知の親和リガンドを有していないので、分子相互作用を検出する標識化されない手段が強く望まれる。さらに、有毒な発蛍光団および放射性同位元素を配置する経済的および環境的なコストに加えて、多くの標識化検定技術に対する試薬コストは極めて高価である。

【0004】

これらの分野、例えば酵素結合イムノソルベント検定法（E L I S A）、ラジオイムノアッセイ法（R I A）、多数の蛍光検定法、質量分光法、比色分析検定、ゲル電気泳動、ならびに、より特殊な多数の検定の需要に見合うように、数年にわたって、多数の方法が開発されてきた。これらの検定技術の多くは特殊な調製、特に、標識を付け、被検サンプルを大幅に純化して增幅させることを必要とする。リガンドとアンチリガンドとの間の結合事象を検出するためには、結合の存在または結合の延在に関する検出可能な信号が必要となる。通常、信号は、当該リガンドまたはアンチリガンドと複合される標識によって供給される。

【0005】

検出可能な信号を形成し、対応する適切な標識が存在する物理的または化学的な効果には、一例を挙げるならば、放射能、蛍光、化学発光、りん光および酵素活性が含まれる。この際に標識は分光光度測定法、放射測定法または光学トラッキング法によって検出することができる。残念ながら、多くの場合、特定の検定に必要となる分子のうちの1つまたは全てを標識化するのは困難であるか、または不可能でさえある。さらに、このような標識化アプローチは結合事象の正確な性質を見極めることはない。例えば、受容体との活性部位結合は、非活性部位結合、例えばアロステリック結合との見分けがつかず、ひいてはこの検出法を介して機能情報は得られない。従って、標識化の必要を排除し機能情報をもたらす、結合事象を検出する方法が、上述のアプローチに大幅に改良を加えることになる。

【0006】

生化学システムを研究するための他のアプローチは、生体系の或るクラス、例えば組織サンプルや細胞系を特徴づけるための、種々のタイプの誘電測定を用い

ている。1950年代に、当時知られていた物質の誘電特性を特定するための標準技術を用いて、生体組織の誘電特性を測定するために実験が行われた。そのとき以来、これらの測定を実施するための種々のアプローチは、周波数ドメイン測定、および、時間ドメイン誘電分光法のような時間ドメイン技術を含んでいた。このようなアプローチの場合、実験は通常、種々の同軸的な伝送ライン、または他の伝送ラインおよび物質の誘電特徴化において典型的に使用される構造を用いて行われた。

【0007】

このことは、生態系の広範囲な誘電特性の使用および関連性を見るための研究を含んでいた。すなわち、哺乳類種の種々の器官から採取された組織サンプル全体から、細胞膜を含む細胞下系および細胞小器官効果に至るまで関心の範囲は広がった。最近、分子系の誘電特性における変化の検出を改善するために、上述の技術を小型化しようと試みられた（例えば米国特許第5, 653, 939号明細書、同第5, 627, 322号明細書および同第5, 846, 708号明細書参照）。これらの構成は、検出戦略において使用可能な周波数に対するいくらかの実質的な制限と、分子系を検出する感度に対する重大な制限とを含む、いくつかの欠点を有しており、しかも製造が高価である。

【0008】

全体的に見て、極めて多くの検定システムの特異性領域および感度領域に制限が存在する。細胞屑および非特異性結合はしばしば検定をノイズの大きいものにし、有用な情報を抽出するのを困難にまたは不可能にする。上述のように、当該すべての被検物に標識付けを可能にし、または、実施されるべき精密光学測定を可能にするには余りにも複雑な系がいくつかある。さらに、上述のように、これらの検出技術のほとんどは、結合事象の機能上の性質に関する情報をもたらさない。従って、被検体の存在または延在、および、実際に所与の系内で行われている他の相互作用を、リアルタイムで標識なしに直接モニタリングできる実際的かつ経済的な普遍的手段が、画期的な進歩を意味することになる。

【0009】

さらに具体的には、生物医学業界は、水または他の液体をベースとする生理系

、例えば核酸結合、タンパク質・タンパク質相互作用、小分子結合ならびに他の当該化合物に対して極めて幅広い適用性を有する改善された一般的なプラットフォーム工学を必要としている。理想的には、検定は光度に特異的なプローブ、例えば特異的抗体および正確に相補的な核酸プローブを必要とすべきでない；検定は、自然環境、例えば血液全体、細胞質ゾル混合物ならびに自然に生じる他の系のなかで作業可能であるべきである；検定は、分子の自然特性を測定することによって作業すべきであって、結合事象を実際にモニタリングするために付加的な標識またはトレーサを必要とすべきでない；いくつかの用途に関連して、検定は結合事象の性質に関する或る一定の所望された情報、例えば所与の化合物が特定の薬物受容体に対してアゴニストまたはアンタゴニストとして作用するか否かについての情報を提供可能であるべきであり、しかも、単に結合事象が行われたか否かを表示するためのマーカーとして機能するべきではない。

【0010】

多くの用途に関連して、検定は高度に小型化可能であり高度に並列でなければならぬので、複雑な生化学経路をマッピングすることができ、または、極めて小さく多量の組み合わせ化合物を薬物スクリーニングプロトコルに使用することができる。多くの用途の場合、さらに、複雑な反応物列をリアルタイムでモニタリング可能でなければならず、これにより動力学特性および親和力の正確な情報をほとんど即座に得ることができる。極めて多くの商業的用途にとっておそらく最も重要であるが、この検定はあまり多くのサンプル調製ステップを伴わず、手ごろな電子装置と使い捨て可能な部分、例えば検定に使用して次いで捨てができる生物検定用の表面チップとを有する、低廉で使用しやすいものであるべきであり、また、広範囲の検定用途に高度に適合可能であるべきである。

【0011】

他の業界も、検出、識別または付加的な分析に対して同様な要件を有していることに留意することが重要である。殆どの用途は生体分子の使用を伴う一方、特異的結合パートナーが利用可能な場合、または、分子自体が下で説明するような表面に付けることができる場合、実質的にどの分子も検出することができる。

本発明は上述の要求および要求の多くを満たす。

【0012】

発明の概要

本発明は、分子結合事象を検出して識別するのに使用することができるテストシステムおよびバイオアッセイデバイスを提供する。1つの実施態様において、本発明はテスト固定装置と、測定システムと、コンピュータとを有するテストシステムを提供する。固定装置は、信号経路と、信号経路と電磁的に連通する状態で、分子構造を含有するサンプルを配置するように構成された保持構造とを有するバイオアッセイデバイスを含んでいる。測定システムは、1つまたは複数の予め決められた周波数で信号経路にテスト信号を送り、また信号経路からテスト信号を受け取るように構成されている。コンピュータは、測定システムに対するテスト信号の送受を制御するように構成されている。

先の図面および詳細な説明に照らして考えると、本発明をより良く理解することができる。

【0013】

実施例の説明

内容の目録

- I. 定義
- II. 全体的な概観
- III. 単一経路テストシステムおよびバイオアッセイ
 - A. テストシステム
 - B. テスト固定装置
 - C. バイオアッセイデバイス
- IV. アレイテストシステムおよびバイオアッセイ
 - A. テストシステム
 - B. テスト固定装置
 - C. バイオアッセイデバイス
- V. 用途
 - A. 薬物発見用途
 - B. 核酸化学用途

【0014】

I. 用語の定義

本明細書中に使用するように、生物学的な「結合パートナー」または「リガンド／アンチリガンド」または「リガンド／アンチリガンド複合体」という用語は、近接的複合体 (proximal complex) 、例えば抗体・抗原、レクチン・炭水化物、核酸・核酸、タンパク質・タンパク質、タンパク質・小分子、例えば薬物・受容体などを形成するための他の分子を特異的に認識する分子のことを云う。生物学的な結合パートナーは、單一分子対に限定される必要はない。従って例えば2つ以上の「アンチリガンド」の同調的作用によって、單一のリガンドが結合されてよい。

【0015】

本明細書中に使用するように、「リガンド」または「被検体」または「マーカー」という用語は、検出されているあらゆる分子を意味する。分子はアンチリガンドとの相互作用と通して検出される。アンチリガンドは特異的または非特異的にリガンドと結合するか、または、リガンドの特徴的な誘電特性によってリガンドと結合する。リガンドは一般的には、前記リガンドの或る部分を化学的またはその他の方法で認識することによって、物質または特異的または非特異的に前記リガンドと結合する別の分子（すなわちアンチリガンド）が対応して存在するあらゆる分子として規定される。

【0016】

アンチリガンドは例えば抗体であってよく、リガンドは、抗体と特異的に結合する抗原のような分子であってよい。抗原が表面に結合され、抗体が、検出されている分子である場合、この明細書の目的として、抗体はリガンドとなり、抗原はアンチリガンドである。リガンドはまた、核酸、タンパク質、脂質、小分子、膜、炭水化物、ポリマー、細胞、細胞膜、細胞小器官、および、これらの合成類似体から成っていてもよい。

【0017】

本発明の、実際に適したリガンドには、（抗体／エピトープ複合体を形成する）抗体、抗原、核酸（例えば天然または合成DNA、RNA、gDNA、cDN

A、mRNA、tRNAなど)、レクチン、(例えばレクチン／糖複合体を形成する)糖、糖タンパク質、受容体およびそれらの同属リガンド(例えば成長因子およびこれらに連携する受容体、サイトカインおよびこれらに連携する受容体、信号用受容体など)、(組み合わせライブラリで開発され貯えられた天然産物または合成類似体からの)薬物候補のような小分子、代謝生成物、濫用薬物およびそれらの代謝副産物、補因子、例えばビタミンおよび天然に生じる他の化合物および他の合成化合物、生理液、細胞、細胞成分、細胞膜および連携する構造中に見出される酸素および他の気体、植物源および動物源に見出される他の天然産物、他の部分合成産物または完全合成産物などが含まれるが、これらに限定されるものではない。

【0018】

本明細書中で使用するように、「アンチリガンド」という用語は、別の分子(すなわちリガンド)と特異的または非特異的に結合する分子を意味する。アンチリガンドはやはり、アンチリガンドが特異的にまたはその固有の特徴的な誘電特性によって結合するリガンドとの相互作用を通して検出される。本明細書中に使用したように、アンチリガンドは通常、表面上に単独で、または表面上に固定化された結合対の一部として固定化される。

【0019】

いくつかの実施例においては、アンチリガンドは、信号経路、誘電体表面または誘電容積、または、導体表面における分子から成っていてよい。アンチリガンドはさらに、1つまたは複数のリンカーによって、信号経路に近接した、またはこれに組み込まれた表面またはマトリックスに取り付けられてよい。あるいはアンチリガンドがリガンドに結合するとすぐに、その結果生じたアンチリガンド／リガンド複合体を、続く結合または続くほかの相互作用のためのアンチリガンドと考えてもよい。

【0020】

タンパク質またはポリペプチド、核酸または受容体、または、本明細書中で説明したほかの結合パートナーについて言及する場合、本明細書中に使用したように、「特異的に結合する」という用語は、タンパク質および／または他の生物学

的物質の不均質な集団中に当該同属リガンドを限定する要因となる結合反応を意味する。従って、指定された条件（抗体の場合は免疫検定条件、または、核酸結合の場合は緊縮条件）下では、特定されたリガンドはその特定の「標的」と結合し（例えば、ホルモンはその受容体と特異的に結合し、または、所与の核酸配列はその相補的な配列と結合する）、サンプル中に存在するほかの分子と、または、リガンドまたは抗体が生物または生物から引き出されたサンプル中で接触可能な他の分子と、大量に結合することはない。

【0021】

本明細書中に使用するように、「単離された」、「精製された」または「生物学的に純粋な」という用語は、自然の状態に見出されるように通常は付随する成分を実質的または本質的には有さない物質を意味する。

本明細書中に使用するように、「核酸」という用語は、一本鎖または二本鎖の形のデオキシボヌクレオチドまたはリボヌクレオチドのポリマーを意味し、他に限定されない場合には、天然のヌクレオチドと同様に機能可能な天然ヌクレオチドの周知の類似体を含む。

【0022】

本明細書中に使用するように、「ポリペプチド」、「ペプチド」および「タンパク質」という用語は、アミノ酸残基のモノマーまたはポリマーに言及するのに交換可能に用いられる。これらの用語は、1つまたは複数のアミノ酸残基が、対応する天然アミノ酸の人工的な化学類似体であるようなアミノ酸ポリマー、ならびに、天然アミノ酸ポリマーに当てはまる。

【0023】

本明細書中に使用するように、「抗体」という用語は、免疫グロブリン遺伝子または免疫グロブリン遺伝子のフラグメントによって実質的にコード化された1つまたは複数のポリペプチドから成るタンパク質を意味する。認識された免疫グロブリン遺伝子は、カッパ、ラムダ、アルファ、ガンマ、デルタ、エプシロンおよびミューの定常部遺伝子、ならびに、無数の免疫グロブリン可変領域遺伝子を含む。軽鎖はカッパまたはラムダとして分類される。重鎖はガンマ、ミュー、アルファ、デルタまたはエプシロンとして分類され、これらはそれぞれ免疫グロブ

リンクラス、IgG、IgM、IgA、IgDおよびIgEを定義づけする。

【0024】

典型的な免疫グロブリン（抗体）構造単位は、四量体を構成することが知られている。それぞれの四量体は、2つの同一のポリペプチド鎖対から成っており、各対は、1つの「軽い」（約25kD）鎖と、1つの「重い」鎖（約50～70kD）とを有している。各鎖の末端は、抗原認識に対して一時的に応答可能な約100～110個またはそれ以上のアミノ酸の可変領域を画定する。可変軽鎖（VL）および可変重鎖（VH）という用語は、それぞれこののような軽い鎖および重い鎖を意味する。

【0025】

抗体は、未処理の免疫グロブリンとして、または、種々のペプチダーゼで消化することによって生産された良好に特徴付けられた多数のフラグメントとして存在する。従って例えば、ペプシンは $F(ab')_2$ へのヒンジ領域でジスルフィドリンクエージの下位で抗体を消化する。 $F(ab')_2$ は、ジスルフィド結合によって VH-CH1 に接合された軽鎖である Fab の二量体である。 $F(ab')_2$ は、ヒンジ領域におけるジスルフィドリンクエージを切断することにより $F(ab')_2$ 二量体を Fab' モノマーに変換するために、穏やかな条件下で減じられてよい。 Fab' モノマーは本質的にはヒンジ領域部分を有する Fab である（他の抗体フラグメントのより詳細な説明に関しては、Fundamental Immunology, W. E. Paul編, Raven Press, N.Y. (1993) 参照）。

【0026】

種々の抗体フラグメントは未処理の抗体の消化という言葉で定義付けられるが、このような Fab' フラグメントが化学的にまたは組換えDNA法を利用するこことによって、ドウノボ合成されてよいことは、当業者にとっては明らかである。従って本明細書中に使用するように、抗体という用語は、抗体全体を修飾することによって生産された抗体フラグメント、または組換えDNA法を利用してドウノボ合成された抗体フラグメントを含んでいる。好ましい抗体は一本鎖抗体を含み、より好ましくは一本鎖 Fv ($scFv$) 抗体を含む。この一本鎖 Fv ($scFv$) 抗体中には、可変重鎖と可変軽鎖とが互いに（直接的にまたはペプチド

（リンクーを介して）接合されており、これにより、連続的なポリペプチドを形成する。

【0027】

一本鎖 Fv（「scFv」または「scFv」）ポリペプチドは、共有リンクされた VH : VL ヘテロ二量体である。この二量体は、直接的に接合されるか、または、ペプチドコード化リンクーによって接合された VH および VL 一コード化配列を含む核酸から発現されてよい。Huston他 (1988) Proc. Nat. Acad. Sci. 米国、85: 5879~5883。自然凝集され、しかし化学的に分離された、抗体 V 領域からの軽・重ポリペプチド鎖を scFv 分子に変換するための多数の構造は折れ畳まれて、抗原結合部位の構造と実質的に同様の三次元構造になる。例えば米国特許第 5, 091, 513 号、同第 5, 132, 405 号、同第 4, 956, 778 号の各明細書を参照されたい。

【0028】

「抗原結合部位」または「結合部位」は、抗原結合に関与する免疫グロブリンの部分を意味する。抗原結合部位は、重（「H」）鎖および軽（「L」）鎖の N 末端可変（「V」）領域のアミノ酸残基によって形成される。重鎖および軽鎖の V 領域内の著しく多様な 3 つの延伸部は、「超可変領域」と呼ばれる。超可変領域は、「フレームワーク領域」または「FRs」として知られる、より多くの保存されたフランкиング延伸部の間に挟まれている。

【0029】

従って、「FR」という用語は、免疫グロブリン中の超可変領域相互間で、また、超可変領域に隣接して、天然に見出されるアミノ酸配列を意味する。抗体分子において、軽鎖の 3 つの超可変領域と、重鎖の 3 つの超可変領域とは、抗体結合「表面」を形成するために、三次元空間において互いに相対的に配置される。このような表面は標的抗原の認識および結合の媒介となる。重鎖および軽鎖それぞれの 3 つの超可変領域は、「相補性検出領域」または「CDRs」と呼ばれ、例えば、Kabat 他、Sequences of proteins of immunological interest 第 4 版、U. S. Dept. Health and Human Services, Public Health Services, Bethesda, MD (1987 年) によって特徴付けられる。

【0030】

本明細書中に使用するように、「免疫結合」または「免疫結合特性」は、免疫グロブリン分子と、免疫グロブリンが特異的な抗体との間で発生するタイプの非共有相互作用を意味する。本明細書中に使用するように、生体サンプルは、健康状態および／または病理学的な状態において、当該被検体に関連して検定されるべき生体組織または体液のサンプルである。このようなサンプルには、唾液、羊水、血液、血液細胞（例えば白血球）、組織または微細針生検サンプル、尿、腹膜液、胸膜液またはこれらからの細胞が含まれるが、これらに限定されるものではない。

【0031】

生体サンプルはまた、組織学的な目的で採取された凍結部分のような組織部分を含んでよい。サンプルはヒト患者から採取されるのが典型的ではあるが、検定は、あらゆる哺乳類、例えば犬、猫、羊、畜牛および豚から採取されたサンプル中の当該被検体を検出するのに用いることができる。サンプルは、所望の場合には、適切な緩衝溶液中で希釈することによって必要に応じて前処理されるか、または、濃縮されてよい。種々の緩衝液、例えばホスフェート、トリスなどのうちの1つを採用した多数の標準的な緩衝水溶液のうちのいずれかを、好ましくは生理学的pHで使用することができる。

【0032】

本明細書中に使用するように、「受容体」または「薬物受容体」という用語は薬物療法のための標的である生体構造を意味し、タンパク質、例えばGタンパク質共役受容体のような膜結合構造、ホルモン受容体のような核受容体；遺伝子発現を調節するタンパク質、例えばプロモータおよびインデューサ；核酸標的、例えば遺伝子、発現配列、調節および信号発信配列；所与の生物の生理学的活性を調節または媒介する生体系中の他のタンパク質を含む。

【0033】

本明細書中に使用するように、信号経路は、生体電気的なインタフェイスに沿った、または、このインタフェイスを介した伝送媒体を意味する。インタフェイスは、DC静電界を含む有用な周波数の電磁的な信号を支持することができる。

信号経路の一例を挙げると、導体および誘電体導波路構造、導体および誘電体伝送ライン構造、多重導体および多重誘電体伝送媒体、例えばトランスバース電磁（T E M）伝送ライン、トランスバースエレクトリック（T E）、トランスバースマグネチック（T M）、またはT E Mの伝搬モードを支持する3つ以上の導体素子または誘電体素子を有する伝送ライン、例えば四極ラインおよび八極ライン；カップリングされた導波路、および、カップリングされてもされなくてもよい導体および誘電体共鳴キャビティ構造；導体および誘電体アンテナ構造、例えば双極子または四極子アンテナ；消失波構造、例えば消失導波路、カップリングされてもされなくてもよい、消失波伝送ラインおよび消失波アンテナ；他の非モード構造、例えばワイヤ、プリント回路、および他の配線回路、および集中インピーダンス導体構造などがあるが、完全に網羅したわけではない。

【0034】

信号経路が1つまたは複数の導体領域から成る実施例の場合、導体領域はその範囲全体にわたって連続的に延びる。信号経路が非金属製、例えば誘電体の導波路、アンテナ、伝送ラインであるような実施例の場合、使用されている周波数または周波数範囲における最大導電率を有する経路として、または、分子結合領域自体として、信号経路が画定される。

【0035】

本明細書中に使用するように、「分子結合領域」または「M B R」は、生体電気的なインターフェイスに沿って、またはその間で信号経路にカップリングされた少なくとも1つの分子構造（すなわち被検体、アンチリガンドまたはリガンド／アンチリガンド対など）を有する表面層または容積エレメントを意味する。分子結合領域は、1つまたは複数のリガンド、アンチリガンド、リガンド／アンチリガンド複合体、リンカー、プリマーのマトリックスおよび他の物質、または、本明細書中に記載した他の分子構造から成っていてよい。

【0036】

さらに、分子結合領域は極めて多様であってよく、マトリックス層および／または絶縁層を含む1つまたは複数の成分を含んでよい。これらの層は、1つまたは複数のリンク群を有してよい。分子結合領域は、直接的または間接的な物理的

接続を介して、または、リガンドが信号経路から物理的に隔離されている場合には、電磁的なカップリングを介して信号経路にカップリングされる。分子結合領域は、例えばチオールリンカー、アルカンチオール、異種二官能アルカン、分枝デキストラン、ビオチニル化金属など、全て標準的な実践に従ったものによって誘導された表面を有していてよい。

【0037】

本明細書中に使用するように、「結合事象」という用語は、2つ以上の分子構造、例えばリガンドとアンチリガンドとの間の相互作用または連携を意味する。相互作用は、2つの分子構造が直接的または間接的に物理的に接触している場合、または2つの構造が物理的には隔離されているが電磁的にはカップリングされている場合に生じる場合がある。生物学的コンテキストにおける当該結合事象の例としては、リガンド／受容体、抗原／抗体、薬物－受容体、タンパク質－タンパク質、酵素／基質、DNA／DNA、DNA／RNA、RNA／RNA、核酸ミスマッチ、相補的な核酸および核酸／たんぱく質が含まれるが、これらに限定されるものではない。あるいは、「結合事象」という用語は、本明細書中に記載した单一の分子または分子構造、例えばリガンド、またはアンチリガンド／リガンド複合体を意味する場合がある。この複合体は信号経路に結合される。この場合、信号経路は第2の分子構造である。

【0038】

本明細書中に使用するように、「リガンド／アンチリガンド複合体」という用語は、アンチリガンドに結合されたリガンドを意味する。結合は特異的または非特異的であってよく、結合は共有結合、水素結合、免疫結合、ファンデルワールス力または他のタイプの結合であるのが典型的である。

本明細書中に使用するように、「カップリング」という用語は、直接的または間接的な物理的接続、または、信号カップリングの形、例えば静電的または電磁的なカップリング、物質界相互作用などを介して、2つの構造間でエネルギーを移動することを意味する。

【0039】

本明細書中に使用するように、「テスト信号」という用語は、直流の周波数ド

メイン信号、または、バイオアッセイデバイスをプローブするのに使用される時間ドメイン信号を意味する。周波数ドメイン信号は電磁スペクトル内で規定された有用な周波数で伝搬することができる。テスト信号が伝搬できる周波数範囲は例えば、1 MHz 以上、例えば 5 MHz、10 MHz、20 MHz、45 MHz、100 MHz、500 MHz、1 GHz、5 GHz、10 GHz、30 GHz、50 GHz、100 GHz、500 GHz、1000 GHz およびこれらの間に範囲を有する周波数である。時間ドメインテスト信号は、方形、鋸歯、三角形または他の周知の波形で、周期的または非周期的なインターバルで生成されてよい。時間ドメイン信号は、分子結合領域に関連する偏重を可能にする振幅および立上り／立下り時間から成っていてよい。例えば時間ドメインテスト信号は、0 V～50 V の振幅と、0.1 pS～1 μS の立上り／立下り時間、またはこれらの間のいずれかの範囲とを有する方形の波形から成っていてよい。

【0040】

本明細書中に使用するように、「酵素」という用語は、触媒として作用することにより、他の化合物中または「基質」中の化学反応の活性化エネルギーを減じるが、しかし反応中の最終産物ではないタンパク質を意味する。

【0041】

本明細書中に使用するように、「サンプル」および／または「溶液」という用語は、リガンドが内部に存在する物質を含む。溶液の例としては、固体、液体または気体の状態での物質を含むが、これに限定されるものではない。固体状溶液は、炭水化物、タンパク質、オリゴヌクレオチド、あるいは、あらゆる有機ポリマー物質、例えばナイロン、レーヨン、ダクリオン (dacryon)、ポリプロピレン、テフロン (登録商標)、ネオプレン、デルリンなどを含む、天然に発生する分子または合成分子から成っていてよい。

【0042】

液状溶液は、水性、有機または他の一次成分、ゲル、気体、エマルジョンを含有する溶液を含む。溶液の例としては、セルロース、デキストラン誘導体、d-PBS の水溶液、トリス緩衝液、脱イオン化水、血液、生理学的緩衝液、脳脊髄液、尿、唾液、水、有機溶剤が挙げられる。本明細書中では、溶液とは、リガ

ドおよび／またはアンチリガンドがその中で結合表面に塗布されるような物質を意味する。溶液は分析されるべきサンプルを含有する。

【0043】

本明細書中に使用するように、「リンク群」または「リンクー」という用語は、バイオアッセイデバイスにいずれか2つの成分を取り付けるのに使用される化学構造を意味する。リンク群は従って、一方の成分、例えば導体表面または誘電体マトリックスと結合する第1の結合部分と、他方の成分、例えばマトリックスまたはアンチリガンドに結合する第2の結合部分とを有する。

本明細書中に使用するように、「バイオアッセイデバイス」という用語は、分子結合領域が形成される構造を意味する。バイオアッセイデバイスは、表面、切欠き領域、容積または気密容器から成っていてよく、これらのそれぞれは特定のサイズまたは形状を有していてよい。

【0044】

本明細書中に使用するように、「バイオアッセイシステム」という用語は、バイオアッセイデバイスを電磁的にプローブし、検出するのに必要な構成部分と接続された、上述のバイオアッセイデバイスを意味する。これらの構成部分には、信号経路、支持体、電子デバイス、例えば信号発生器、オシロスコープ、ネットワークアナライザ、時間ドメイン反射計、または、バイオアッセイデバイスから信号をプローブして検出するのに必要な他の機器、マイクロチップ、および、電磁的な信号をプローブして検出しデータを分析することができるマイクロプロセッサなどが含まれるが、これらに限定されるものではない。

【0045】

本明細書中に使用するように、「共鳴する」または「共鳴」という用語は一般的に、周波数との関連において、急速に変化する誘電体応答を意味する。

本明細書中に使用するように、「分散」という用語は、プローブ放射の周波数に対する、物質の誘電特性の機能的な依存を意味し、特に、所与の物質の誘電特性が、プローブ用電磁エネルギーの周波数に対して強い機能的な依存関係を有しているような電磁スペクトル領域を見極めるのに使用される。

本明細書中に使用するように、「生体電気的なインターフェイス」という用語は

、テスト信号伝搬およびサンプルの分子結合領域を支持するための信号経路を含むインターフェイス領域を意味する。

【0046】

本明細書中に使用するように、「マトリックス」または「結合マトリックス」という用語は、バイオアッセイチップ上の層または物質容積を意味する。バイオアッセイチップはスペーサとして使用されるか、または、結合に有効な表面積または容積を増大させるために、または、向上させられた結合に合わせて分子の配向を最適化するために、または、バイオアッセイデバイスを最適化するように、他のあらゆる結合特性を向上させるために使用される。マトリックス層は、炭水化物、例えばデキストラン、ポリアミノ酸、架橋されたタンパク質、架橋されないタンパク質などから成っていてよい。

【0047】

本明細書中に使用するように、「構造変化」という用語は、分子または分子系のサブ構造またはサブユニットの位置、化学的組成、配向、配座、相対配向のあらゆる変化を意味する。一例を挙げるならば、配座の変化、二量化および重合、共有結合、サブユニット動作、他の分子との相互作用、例えば共有結合および非共有結合、疎水結合、変性および復元、ハイブリッド形成、イオン化、置換などが含まれるが、これらに限定されるものではない。

【0048】

I I . 全体的な概観

本発明は、殆どの分子が呈する固有の誘電特性に基づいて、膨大な数の分子を区別できるという認識を利用する。このような顕著な誘電特性は、結合分子構造に電磁的な信号をカップリングすることにより観察することができる。固有の誘電特性は信号を変調し、この信号に固有信号応答を与える。次いで固有信号応答は、リガンドと、分子結合領域を構成する他の分子とを検出して識別するのに使用することができる。

【0049】

図1Aは、本発明によるバイオアッセイシステム100の1つの実施例を示す側面図である。システム100は、二導体、信号平面、接地平面、回路トポジ

ーで図示されている。回路トポロジーは、マイクロストリップ、ストリップライン、共面導波路、スロットラインまたは同軸システムに集中または分配された素子回路を含む多数のアーキテクチャで実現することができる。さらに、電子工学における当業者であれば、システムを簡単に单一導体導波路システムまたは3つ以上の導体のシステムに変更できることは明らかである。

【0050】

図示の通り、システム100は信号源110と、伝送ライン120と、接地平面130と、バイオアッセイデバイス150と、信号検出器160とを有している。図示の実施例は、バイオアッセイデバイス150にカップリングされた2つの伝送ライン120を示すが、別の実施例では、システムは、単一ポート測定を行うために、バイオアッセイデバイスにカップリングされた単一の伝送ラインから成っていてよい。

【0051】

伝送ライン120は、所望の作動周波数にわたってD. C電圧/A. C電流の時間または周波数ドメイン信号の伝搬を支持することができる材料から形成される。伝送ライン120は、導体層、例えばコンベンショナルなフォトリソグラフィまたは半導体処理技術を用いて支持体、例えばアルミナ、ダイヤモンド、サファイア、ポリイミドまたはガラス上に堆積された、同軸ケーブル内の中心導体または金伝送ラインとして実現することができる。信号相互接続部122は、ワイヤ/リボンボンド、ろう接、導電性エポキシコネクタ、または動作周波数に適したコンベンショナルな結線技術を介して製作されてよい。

【0052】

システム100はさらに、誘電性支持体151と信号経路152とを備えたバイオアッセイデバイス150を有している。誘電性支持体151は、絶縁性材料、例えばガラス、アルミナ、ダイヤモンド、サファイア、シリコン、ガリウム、砒化物、または半導体処理で使用される絶縁性材料から成っていてよい。あるいは、Rodges Corporationによって製造されたR T / D u r o i d (登録商標)のような誘電性材料または他の同様な誘電性材料が使用されてもよい。

【0053】

信号経路152は、低い挿入損媒体を提供するように形成されており、T E, T MまたはT E M信号アーキテクチャから成っていてよい。或る実施例の場合、信号�路152は、0.1 μ m～1 0 0 0 μ mオーダのスパッタリングされた金の厚さを有する、フォトリソグラフィック形成されたマイクロストリップ伝送ラインから成っている。この実施例において、伝送ラインは信号損失をD. C. ～1 1 0 G H zの低さにするように形成されている。他の導電性材料、例えばインジウム錫オキシド (ITO)、銅、銀、亜鉛、錫、アンチモン、ガリウム、カドミウム、クロム、マンガン、コバルト、イリジウム、白金、水銀、チタン、アルミニウム、鉛、鉄、タンゲステン、ニッケル、タンタル、レニウム、オスミウム、タリウムまたはこれらの合金が、伝送ラインを形成するのに使用されてよい。別の実施例の場合、信号経路152は、さらに下で説明するように、誘電性領域から成る。

【0054】

生体電気的なインターフェイス領域153が、信号経路152にわたって領域を画定し、適用されたサンプル157のM B R 156は電磁的にカップリングされる。本発明の1つの実施例の場合、M B R 156は特異的に信号経路152と結合する。本発明の別の実施例の場合、M B R 156は非特異的に信号経路152と結合する。本発明のさらに別の実施例の場合、M B R は電磁的に信号経路152にカップリングされるが、しかし、信号経路152から隔離されている。

【0055】

十分な電磁的カップリングは、信号経路152への直接的な結合を介して生じることができ、または、M B R 156の分子構造が信号経路152の極めて近傍に浮遊している状態から生じることができる。信号経路との直接的な分子結合を行おうとする場合、信号経路は、リンカーおよび／またはマトリックス層を有していてよい。このことは、1999年2月2日付けで出願した、同一出願人による係属中の米国特許出願第09/243, 194号、表題「分子結合事象を検出するための方法および装置(Method and Apparatus for Detecting Molecular Binding Events)」に記載の通りである。この明細書を参考のため本明細書中に引用する。

【0056】

MBR156は主として、1つまたは複数のリガンドから成っているが、本明細書中に記載したように、他の分子および構造が含まれていてもよい。MBR156は、例えば一次結合の場合、ただ1つの結合リガンド段から成っていてよく、または、二次またはより高次の結合事象が生じている場合には、2つ、3つ、4つ、5つまたは6つ以上の結合リガンド段から成っていてよい。複数のリガンド段は、同一信号経路にわたって、異なる結合表面155で生じることができる。さらにMBR156は、リガンドおよびアンチリガンドが構成成分、例えば分枝デキストラン、ポリマー、アミノ酸鎖、当業者に良く知られたほかのリンカー等に付けられた状態で、所定の容積でマトリックスを含んでよい。

【0057】

図示の実施例の場合、誘電性支持体151は信号経路152と接地平面159との間に配置されている。しかし、MBR156およびサンプル157は、接地平面159の近傍に配置されてもよく、この場合図1Aに示したような信号経路152に対するMBRの配置関係とは異なり、またはこの配置関係に加えて、MBR156は、接地平面159に電磁的にカップリングされる。

【0058】

システム100は、信号源110を有しており、この信号源は伝送ライン120へ、バイオアッセイデバイス150に向かってテスト信号（反射信号または伝送信号またはその両方）112を発する。テスト信号120がバイオアッセイデバイス150の生体電気的なインタフェイス領域153に沿って伝搬すると、MBR156の誘電特性がテスト信号を変調する。次いで、変調されたテスト信号162は検出器160によって回収されて、MBR156中で生じた分子結合事象を検出して識別するのに使用される。

【0059】

図1Bは、本発明によるバイオアッセイテストシステムの第2の実施例を示す。前述のエレメントを示すのに、図1Aで用いた参照番号を再使用する。システムは、上述の信号源と、伝送ライン120と、接続部122と、接地平面130と、バイオアッセイデバイス150と、信号検出器160とを有している。

【0060】

バイオアッセイデバイス170は、前述の誘電性支持体151と、接地平面159とを有している。信号経路は伝送ライン172と、伝送ライン172相互間の生体電気的なインターフェイスを横切って形成された誘電性領域156とを有する。誘電性領域156は、MBRから成り、サンプル157の分子結合事象から形成される。誘電性領域は、伝送ライン172相互間に、DCブロックされた、低信号損媒体を提供するように形成されている。誘電性領域156の、D.C.をブロックする特性によって、さらに下で説明するテストシステムの動作を妨害するおそれのあるD.C.電圧および電流が、出力および入力の間を通過するのが防止される。

【0061】

誘電性領域156は、所望のテスト周波数にわたって信号損を低くする。周波数のいくつかの例を挙げると、1MHz、5MHz、10MHz、20MHz、45MHz、80MHz、100MHz、250MHz、500MHz、750MHz、1GHz、2.5GHz、5GHz、7.5GHz、10GHz、12GHz、18GHz、20GHz、22GHz、24GHz、26GHz、30GHz、33GHz、40GHz、44GHz、50GHz、80GHz、96GHz、100GHz、500GHz、1000GHz、またはこれらの範囲に位置する周波数である。

【0062】

上述のように、MBRはテスト信号を変調するように動作する。誘電性領域156のアーキテクチャは、生体電気的なインターフェイス領域を通して高信号損を伴わずに、信号を支持し伝搬するのに役立つ。誘電性領域156を形成するためには、MBRに対する結合表面として、絶縁性支持体176が使用される。MBRは絶縁性支持体176と、特異的または非特異的に結合することができる。絶縁性支持体151は、誘電性支持体151と同じかまたは異なる誘電性材料から成っていてよく、これとは異なり、あるいはこれに加えて、引用特許明細書、米国特許出願第09/243,194号、表題「分子結合事象を検出するための方法および装置(Method and Apparatus for Detecting Molecular Binding Events)

」に記載の通り、リンカー、マトリックス、および／または、絶縁層から成っていてよい。

【0063】

十分なテスト信号変調を可能にする一方、通過損を最小限に抑えるように、誘電性領域（M B R）156の長さが選択される。典型的な長さは、 10^{-1} m、 10^{-2} m、 10^{-3} m、 10^{-4} m、 10^{-5} m、 10^{-6} m、 10^{-7} m、 10^{-8} m、 10^{-9} m、 10^{-10} m、 10^{-11} mのオーダまたはこれらの間のいずれかの範囲にある。

【0064】

指摘したように、リガンドが物理的には信号経路151から隔離されているが、電磁的には信号経路151とカップリングされている場合にも、リガンドの検出および識別は可能である。この場合、信号経路151と浮遊リガンドとのカップリングは、信号経路151に沿ったテスト信号伝搬の応答を変えることになり、これにより、リガンドを検出し、かつ／または、識別するための手段を提供する。信号経路151と浮遊リガンドとの間の最大隔離長さは、信号経路151とリガンドとの間の媒体の有効誘電定数、総カップリング面積、信号検出器の感度、溶液中のリガンドの濃度、および所望の検出時間のようなファクタによって影響を受ける。典型的な隔離距離は、 10^{-1} m、 10^{-2} m、 10^{-3} m、 10^{-4} m、 10^{-5} m、 10^{-6} m、 10^{-7} m、 10^{-8} m、 10^{-9} m、 10^{-10} mのオーダまたはこれらの間のいずれかの範囲にある。

【0065】

細胞をベースとした検定のようないくつかの実施例において、MRB156は、サンプルを通して信号経路151に電磁的にカップリングされてよい。従って、細胞、および、具体的には細胞膜および膜をベースとした構造は信号経路と間接的にカップリングすることができる。

【0066】

I I I. 単一経路テストシステムおよびバイオアッセイ

MRB内で生じた分子結合事象は、種々のテストシステムを用いて検出し識別することができる。これらのテストシステムは、テスト信号を生成し、回収し、

ついで生成されたテスト信号の変化を分析する。本発明と併用できるテストシステムは、信号の電圧、電流、インピーダンス、アドミタンス、リアクタンス、振幅、位相、遅延、周波数、波形および／またはタイミングおよび他の信号特性における変化を検出するように形成されたシステムを含む。

【0067】

A. テストシステム

図2は、本発明による単一経路テストシステム200の1つの可能な実施例を示す。テストシステムは、下でさらに説明するテスト固定装置300と、測定システム240と、コンピュータ260とを有している。測定システム240はテスト信号をテスト固定装置300から、また、テスト固定装置300へ、テストケーブル224を介して交信する。コンピュータ260は制御バス250を介して測定システム240を制御する。

【0068】

1つの実施例において、測定システム240はS一パラメータテストモジュールモデル番号8516Aと、周波数合成器（図示せず）モデル番号8341Bと、ベクトルネットワークアナライザモデル番号8510Bとを有している。これらの全ては、カリフォルニア州、パロアルト在、Hewlett Packard Company(www.hp.com)によって製造されている。この実施例では、測定システム240は、45MHz～40GHzの周波数における測定能力を有する。別の実施例では、測定システム240はモデル番号HP8751Aのネットワークアナライザから成っていてよく、このアナライザは、5Hz～500MHzの測定能力を有する。

【0069】

さらに別の実施例では、測定システムはモデル番号HP8510Dから成っていてよく、このシステムは、33GHz～110GHzの測定能力を有し、両者ともHewlett Packard Companyによって製造されている。MBRの誘電特性に帰属可能なテスト信号における変化を検出するために、他の測定システム、例えばスカラネットワークアナライザ、時間ドメイン反射計、他の同様の測定システムが使用されてもよい。

【0070】

ケーブル224は、所望の周波数でのテスト信号の伝播を支持する。1つの実施例では、テストケーブルは、デラウェア州、ニューアーク在、W. L. Gore and Associates, Inc. (www.gore.com) によって製造されたモデル番号6ZのPhasse Flex (登録商標) マイクロ波テストケーブルから成っている。制御バス250は、テストシステムとコンピュータ260との間の交信を可能にし、図示の実施例では、汎用機器バス (GPIB) から成る。別の実施例の場合、測定システム240とコンピュータ260とが、単一の自動測定ユニット内に組み込まれていてよい。

【0071】

1つまたは複数の周波数のテストシグナル、出力レベル、信号形状、位相オフセットまたは他の測定設定値を生成するために、コンピュータ260は測定システム240を制御する。好ましい実施例の場合、コンピュータ26は+450MHzマイクロプロセッサ、例えばカリフォルニア州、サンタクララ在、Intel Corporation (www.intel.com) によって製造されたマイクロプロセッサを有する。グラフィカルプログラミング用のソフトウェアツール、例えば、テキサス州、オースティン在、National Instruments Corporation (www.natinst.com) によって製造されたLabVIEW (登録商標) を使用して、テストシステム制御、データ取得、および分析を行うことができる。

【0072】

これとは別に、または付加的に、測定システム240は、時間ドメイン反射計 (TDR) システム、例えば、上述のネットワークアナライザと一緒に任意に利用可能なシステム、または、引用特許明細書、米国特許出願第09/243,194号、表題「分子結合事象を検出するための方法および装置 (Method and Apparatus for Detecting Molecular Binding Events)」に記載のシステムを有していてよい。本質的に、TDRシステムは信号パルスをテスト中のユニットに向かって伝送する。テスト中のユニットについての情報を確かめるために、(テスト中のユニットから反射させられるか、またはユニットを通して伝送される) 戻り信号を分析することができる。特にこの実施例の場合、MBRの誘電特性が信号パルスを変調することになり、これにより、MBR内の分子結合事象の検出およ

び認識を可能にする。

【0073】

TDR測定は、上述のシステムを使用して固定装置レベルで行われるか、または、マイクロ波モノリシック回路（MMIC）技術の1つまたは複数の標準技術を利用して、バイオアッセイデバイスレベルで行われてよい。TDR測定がバイオアッセイデバイスレベルで行われる場合、バイオアッセイデバイスと極めて近接して、時間ドメインテスト信号が生成される。この信号は次いで、信号経路に沿って、MMIC技術で使用される標準的な導体ジオメトリを介してバイオアッセイ素子に伝搬される。分子結合領域は時間ドメインテスト信号を変調し、変調された信号は次いで分析を受けるために回収される。

【0074】

B. テスト固定装置

本発明のテスト固定装置は、信号経路を提供し、信号経路と直接的に接触するかまたは信号経路に極めて近接した状態で、適用サンプルのMBRを固定するよう形成されている。これにより、信号経路に沿って伝搬するテスト信号はMBRに電磁的にカップリングすることになる。テスト固定装置は、全体的または部分的に閉鎖されるかまたは切り欠かれた構造から成っていてよい。この構造の上方または内部にサンプルを付着し、注入し、または他の方法で塗布することができる。

【0075】

図3Aは、本発明によるテスト固定装置300の1つの可能な実施例の側面図である。テスト固定装置300は頂部プレート302と底部プレート304とを有している。頂部プレート302は、サンプル溶液を注入するためのポート350aおよび350bを有している。頂部プレート302はさらに、サンプル用キャビティの上半部340aを有している。底部プレート304は、サンプル用キャビティの下半部340bを有している。好ましい実施例では、頂部プレート302および底部プレート304はそれぞれ、機械加工されたステンレス鋼から成っており、それぞれ0.320cm x 1.575cm x 3.15cmの寸法を有している。

【0076】

サンプルキャビティ340と共に、反応容器310と、Oリング320と、(図4においてさらに下で説明する)バイオアッセイデバイス400と、底部スペーサ330とが収容されている。反応容器310は、サンプルを受容するためのポート312aおよび312bを有している。反応容器310は、Oリング320を収納するためのOリング用キャビティ318を有している。Oリング320は、バイオアッセイデバイス400に沿ってサンプルを固定するために、反応容器310とバイオアッセイデバイス400との間に位置決めされている。

【0077】

バイオアッセイデバイス400は、信号経路と生体電気的なインターフェイスとを提供する。このインターフェイスに沿って、MBRが形成されることになる。底部スペーサ330は、バイオアッセイデバイス400を適正な高さに上昇させるために設けられており、これにより、バイオアッセイデバイスは、頂部プレート302と底部プレート304との間に形成された入力および出力伝送ライン(図示せず)とカップリングすることができる。

【0078】

サンプルはポート350aおよび350bにカップリングされたフィード管(図示せず)を介して、サンプルキャビティ340内に注入される。サンプル流は、反応容器ポート312aおよび312bを通って、反応容器310内に流入する。好ましい実施例の場合、サンプルは、一方のフィード管に正圧を加え、他方のフィード管に負圧を加えることにより注入される。

【0079】

図3Bは、図3Aに示したテスト固定装置の端面図である。図示のように、テスト固定装置300は、テスト固定装置300内に信号を送り、テスト固定装置300から信号を受けるためのコネクタ360aおよび360bを有している。コネクタ360aおよび360bは、ねじ361を介して頂部プレート302と底部プレート304とに固定されている。コネクタ360aおよび360bは、中心導体362を有している。

【0080】

中心導体は、頂部プレート302と底部プレート304との間にそれぞれ形成された伝送ライン（図示せず）を介して、バイオアッセイデバイス400にカッピングされている。好ましい実施例の場合、コネクタ360はSMAコネクタ、例えばフロリダ州、メルボルン在 SRI Connector Gage Company (www.sriconnector.orgage.com) によって製造されたコネクタである。別の実施例では、コネクタ360は、N, 3.5 mm, 2.5 mm, 2.4 mmまたはテスト周波数範囲に適した他のコネクタであってよい。

【0081】

図3Cは、ポート350aおよび350bと、サンプルキャビティの上半部340aとを示す頂部プレート302の頂面図である。好ましい実施例の場合、サンプルキャビティの上半部340aは0.4 cm x 0.4 cm x 0.080 cmの寸法を有している。図3Dは、サンプルキャビティの下半部340bを示す底部プレート304の頂面図であり、やはり好ましい実施例の場合、サンプルキャビティの下半部340bは0.4 cm x 0.4 cm x 0.080 cmの寸法を有している。図3Eおよび図3Fは反応容器310のそれぞれ側面図および底面図である。好ましい実施例の場合、反応容器はLexan（登録商標）からなっており、0.4 cm x 0.4 cm x 0.070 cmの寸法を有している。ポート312aおよび312bは0.030 cmの直径を有している。Oリング用キャビティ318は0.240 cmの直径を有している。

【0082】

図3Gおよび図3Hは、Oリング320のそれぞれ頂面図および側面図である。好ましい実施例ではOリング320は、エラストマー、例えばViton（登録商標）から成っており、0.030 cmの内径を備えた0.100 cm x 0.240 cmの寸法を有している。図3Iおよび図3Jは底部スペーサ330の頂面図および側面図である。好ましい実施例では、底部スペーサは、Lexan（登録商標）またはアルミナから成っており、0.4 cm x 0.4 cm x 0.025 cmの寸法を有している。

【0083】

C. バイオアッセイデバイス

バイオアッセイデバイスは、この検出システムの生体電気的なインタフェイスを形成する。装置はMBRに電磁的にカップリングされた信号経路を有している。テスト信号を交信するために、信号経路に1つまたは複数の入力／出力ポートが接続されている。例えば当業者に良く知られた反射測定を行おうとする場合、単一の入力／出力ポートが使用されてよい。あるいは、反射測定の代わりに、または反射測定に加えて貫通測定を行おうとする場合は、個別の入力および出力ポートが使用されてよい。

【0084】

信号経路は、MBRに対して非直交方向に沿って形成されることが好ましい。1つの実施例では、テスト信号は、MBRが形成されている表面上の接線に対して平行に伝搬する。他の実施例では、テスト信号は、MBR結合平面に対して、 $\pm 1^\circ$ 、 $\pm 2^\circ$ 、 $\pm 3^\circ$ 、 $\pm 4^\circ$ 、 $\pm 5^\circ$ 、 $\pm 10^\circ$ 、 $\pm 15^\circ$ 、 $\pm 20^\circ$ 、 $\pm 30^\circ$ 、 $\pm 40^\circ$ 、 $\pm 45^\circ$ 、 $\pm 50^\circ$ 、 $\pm 60^\circ$ 、 $\pm 70^\circ$ 、 $\pm 80^\circ$ 、 $\pm 85^\circ$ の角度を成して、またはこれらの間の範囲で伝搬してよい。第1の実施例では、信号経路は、信号経路は二導体構造の伝送ラインから成っており、信号経路方向は、電磁学の分野で良く知られたポインティングベクトルによって画定されている。

【0085】

第2の実施例では、伝送ラインは、導体領域または導体層から成っている。この領域または層は、生体電気的なインタフェイス領域に沿って連続的に延びている。第3の実施例では、信号経路は、所望の動作周波数範囲にわたって生体電気的なインタフェイスに沿って信号損を最小量しか有さない経路として画定されていてよい。第4の実施例では、信号経路は、 $3 \text{ mhos}/\text{m}$ よりも大きいa-c導電率を有するものとして、すなわち、典型的には $5 \text{ mhos}/\text{m}$ よりも大きいが、理想的には $100 \sim 1000 \text{ mhos}/\text{m}$ 以上の範囲にある塩水よりも大きい導電率を有するものとして規定されていてよい。上述のように、MBRは信号経路と直接的に接触しているか、あるいは、信号経路から物理的には隔離されているが、しかし電磁的には信号経路とカップリングされていてよい。

【0086】

信号経路は、多数の種々異なるアーキテクチャ、例えば導電性ワイヤ、伝送ライン、導体または誘電体導波路構造、共鳴キャビティ、または、所望の周波数範囲にわたってテスト信号の伝搬を支持することになる、他のあらゆる伝送媒体で実現することができる。高いテスト周波数（例えば10MHzを上回る周波数）では、信号経路は、マイクロストリップ、ストリップライン、懸垂基板、スロットライン、共面導波路、導体または誘電体導波路、または他の高周波数信号経路アーキテクチャ、例えばR. E. Collins著、「マイクロ波工学のための基礎(Foundation for Microwave Engineering)」、McGraw-Hill Publishing Co.、1966年；およびS. March著「マイクロ波伝送ラインおよびその物理的な実現(Microwave Transmission Lines and Their Physical Realization)」Les Besser and Associates, Inc.、1986年、に記載されたアーキテクチャで実現することができる。以下の例は、本発明の範囲内で可能な信号経路の実施例の一部である。

【0087】

貫通マイクロストリップ伝送ライン

図4Aは、図3Aのテスト固定装置と併用するための標準的なマイクロストリップ伝送ラインバイオアッセイ410の頂面図である。図示したように、信号経路は、入力／出力ポート411相互間で、幅0.065cmおよび長さ1.0cmの伝送ライン412から成っている。バイオアッセイ410は、標準的なフォトリソグラフィック技術を用いて形成され、約3の誘電定数を有する0.55mm厚の石英ガラス基板にスパッタリングされた金の伝送ラインを使用して加工されている。あるいは、他の信号経路アーキテクチャ、導体および基板の材料、および、フォトリソグラフィック技術を採用できることは、当業者には明らかである。

【0088】

テスト動作中、伝送ライン412にわたってサンプルが塗布され、伝送ライン412の露出面に沿ってMBRが形成される。MBRは、伝送ライン412と直接に物理的に接觸しているか、または、このライン412から物理的には隔離されているが、しかし電磁的にはライン412にカップリングされていてよい。MBRが伝送ラインと直接に接觸するような実施例の場合、引用特許明細書、米国

特許出願第09/243, 194号、表題「分子結合事象を検出するための方法および装置(Method and Apparatus for Detecting Molecular Binding Events)」においてさらに説明したように、ラインへの結合を容易にするために、リンク一および／またはマトリックス層が採用されてよい。

【0089】

次に、テストシグナルが、図3Bに示したSMAタイプのコネクタ360を通して伝送ライン412に発せられる。テスト信号が、MBRが付着されるかまたは極めて近接している伝送ライン部分に沿って伝搬するのに伴って、MBRの誘電特性はテスト信号を変調する。次いで変調されたテスト信号は回収されて、MBR内で生じた分子結合事象を検出し識別するのに用いられる。

【0090】

曲折状(メアンダ状)マイクロストリップ伝送ライン

図4Bは、図3Aのテスト固定装置と併用するための、曲折状伝送ラインバイオアッセイ420の頂面図である。バイオアッセイ420は、入力／出力ポート421相互間にカップリングされた曲折状ラインを有している。曲折状ライン422は、より大きな測定感度を提供するようにMBR表面積を増大する一方、検出構造に加える長さおよびサイズを最小限に抑えるように形成されている。

【0091】

図示の実施例では、曲折状ラインは、0.065cmの幅と、入力／出力ポート421相互間に1.0cmの長さとを有している。伝送ラインコーナーは、ライン422に沿って信号反射を最小化し信号伝送を最大化するために、マイタ状に45°に切り落されていてよい。互いに近接するライン区分相互間でのカップリングを最小限に抑えるためにスペース424が形成されている。1つの実施例の場合、ラインスペースは0.033cmである。

【0092】

別の実施例の場合、ラインスペース424は、互いに近接するライン区分422a、422b相互間でのカップリングが～7dB以下であるように規定されている。バイオアッセイ420は、標準的なフォトリソグラフィック技術を用いて形成され、約3の誘電定数を有する0.55mm厚の石英ガラス基板にスパッタ

リングされた金の伝送ラインを使用して加工されている。あるいは、他の信号経路アーキテクチャ、導体および基板の材料、および、フォトリソグラフィック技術を採用できることは、当業者には明らかである。

【0093】

テスト動作中、伝送ライン422にわたってサンプルが塗布され、伝送ライン422の露出面に沿ってMBRが形成される。MBRは、伝送ライン412と直接に物理的に接触しているか、または、このライン422から物理的には隔離されているが、しかし電磁的にはライン422にカップリングされていてよい。曲折状ライン422への結合を容易にするために、リンカーおよび/またはマトリックス層が使用されてよい。

【0094】

次に、テストシグナルが、図3Bに示したSMAタイプのコネクタ360を通して伝送ライン422に発せられる。テスト信号が、MBRが付着されるかまたは極めて近接している伝送ライン部分に沿って伝搬するのに伴って、MBRの誘電特性はテスト信号を変調する。次いで変調されたテスト信号は回収されて、MBR内で生じた分子結合事象を検出し識別するのに用いられる。

【0095】

最小限の検出領域にわたって検出感度を高めるために、図示の構造の多数の変化実施例を実現することができる。例えば、採用されたマイタを、ラインセグメント相互間に意図的なインピーダンスのミスマッチを提供するように形成すると、マイタ相互間に信号反射が生じる。ラインセグメントの有効信号長さが180度に近づくと、反射された信号が、到来する信号と位相結合し、これにより、この周波数での出力信号の振幅がより大きくなる。出力が大きくなると測定感度が増大可能となり、特定の周波数で発生する応答を検出するか、またはより綿密に検査するために、ラインセグメントの長さを調和することができる。

【0096】

マイクロストリップリング共鳴器

図4Cは図3Aのテスト固定装置と併用するためのリング共鳴器バイオアッセイ430の頂面図である。バイオアッセイ430は、リング共鳴器434にカップ

プリングされた入力／出力ポート 431a および 431b を有している。リング共鳴器 434 は、3 つの同心的なリング 434a～c と、これらのリング内に配置されたソリッドな円形リング 434d とを有している。各リング 434a～c は 0.1 cm の幅を有しており、0.1 cm のスペースだけ、近接するリングから隔離されている。

【0097】

ソリッドな円形素子 434 は、0.050 cm の半径を有しており、リングの中心に配置されている。別の実施例では、スペース 434e および／または幅をリングごとに変えることができる。バイオアッセイ 430 は、標準的なフォトリソグラフィック技術を用いて形成され、約 3 の誘電定数を有する 0.55 mm 厚の石英ガラス基板にスパッタリングされた金の伝送ラインを使用して加工されている。あるいは、他の信号経路アーキテクチャ、導体および基板の材料、および、フォトリソグラフィック技術を採用できることは、当業者には明らかである。

【0098】

サンプルが塗布されていない通常の動作中、ポート 431a 内に例えば図 3B に示したような SMA コネクタ 360 を通して、テスト信号が注入される。電磁的なカップリングを介して、テスト信号の一部がリング共鳴器 434 を通って、出力ポート 431b に伝搬する。このインターフェイス 431b ではインピーダンスミスマッチが発生し、信号の一部を源インターフェイス 431a に向かって半さする。信号の残りの部分は、入力ラインセグメントに沿って共鳴回路から出て、テストセットに伝搬する。源インターフェイス 431a では、第 2 のインピーダンスミスマッチが発生し、反射された信号の一部を再び共鳴器出力 431 に向かって反射する。

【0099】

信号の残りの部分は、出力ラインセグメントに沿って共鳴回路から出て、テストセット入力に向かって伝搬される。信号は散逸するか、または、源またはテストセットに伝送されるまで、インターフェイス 431a および 431b 相互間で「ピンポン」を続ける。反射された波の大きさは、インターフェイス 431a および 431b におけるインピーダンスミスマッチの大きさに部分的に依存する。イン

ピーダンスミスマッチが大きければ大きいほど、反射される信号も大きくなる。

【0100】

1つまたは複数の周波数において、インタフェイス431aおよび431b相互間の有効信号経路は180°（またはその倍数）の位相シフトに接近する。このことが発生すると、反射された信号は、到来する信号の位相と実質的に等しい位相を有する入力インタフェイス431aに達することになる。この場合、到来する信号と反射された信号とは、位相が再結合し、これにより、より強力な信号を生成する。より強力な信号が出力インタフェイス431bに達すると、（結合されていない信号と比べて）より大きな信号が、出力インタフェイス431bからテストセットに出る。こうして共鳴器434は、共鳴器434が180°またはその倍数に近い有効信号長さを有するような周波数に近い、より大きな信号を出力することになる。出力信号強さのこのような差は、本明細書中に記載した測定システムを使用して、モニタリングし検出することができる。

【0101】

共鳴器430全体にわたってサンプルが塗布される。リング434a～dの露出部分に沿って、MBRが形成される。MBRは、リングと直接に物理的に接触しているか、または、リング434a～dから物理的には隔離されているが、しかし電磁的にはリング434a～dにカップリングされていてよい。共鳴器リング434a～d、および／または、入力および出力インタフェイス431aおよび431bへの結合を容易にするために、リンカーおよび／またはマトリックス層が採用されてよい。

【0102】

次に、上述のように入力ポート431a内にテスト信号が注入される。テスト信号は、共鳴器434が180°に近づくような周波数を変えるようにMBRの誘電特性が働くこと以外は、前と同様に共鳴器434のリング相互間でカップリングする。さらに、それぞれ異なるMBRの誘電特性が別個のものなので、各MBRは異なる「周波数マーカー」、すなわち、共鳴器が180°位相シフトに近づき、より大きな出力信号を生成するような周波数のマーカーを生成することになる。こうして、異なる分子構造を含有するサンプルは、異なる周波数マーカー

を呈する。これらの周波数マーカーは、未知の溶液中の分子構造の存在を検出するのに使用することができる。加えて、特定のクラス内の分子構造、アルファらせん、ベータシートおよびタンパク質中の他の構造モチーフは、「関連」周波数マーカー、例えば、互いに近接している周波数マーカー、または、予想可能なパターン内で生じる周波数マーカーを呈することがある。

【0103】

他の共鳴構造も可能であることはマイクロ波工学の当業者には理解できることである。例えば共鳴器434は、上記実施例とは異なり、入力インターフェイス431aと出力インターフェイス431bとの間で接続された伝送ラインセグメントからなっていてよい。この実施例の場合、入力および出力の所望のインピーダンスミスマッチと、適切な長さとを提供し、これによりサンプルの存在中に180°位相シフトを可能にするように、伝送ラインセグメントは入力および出力ポートに対して適切なインピーダンスを有することになる。他の共鳴構造、例えば近接して配置された誘電性パックその他を、特定の分子構造の有無を検出するために、僅かに変更を加えた態様と併用することができる。

【0104】

マイクロストリップ容量型ギャップ

図4Dは、図3Aのテスト固定装置と併用するための容量型ギャップバイオアッセイ440の頂面図である。バイオアッセイ440は、入力ラインセグメント442aにカップリングされた入力ポート441aと、出力ラインセグメント442bにカップリングされた出力ポート441bとを有している。入力ラインセグメント442aと出力ラインセグメント442bとの間には、ギャップ444が配置されている。

【0105】

このギャップ444に、サンプルがテスト中、付着される。図示の実施例の場合、入力ラインセグメント442aおよび出力ラインセグメント442bは、それぞれ0.495mmの長さと0.250mmの幅を有している。容量型ギャップ444は、0.010mm x 0.250mmの寸法を有している。バイオアッセイ430は、標準的なフォトリソグラフィック技術を用いて形成され、約

3の誘電定数を有する0.55mm厚の石英ガラス基板にスパッタリングされた金の伝送ラインを使用して加工されている。あるいは、他の信号経路アーキテクチャ、導体および基板の材料、および、フォトリソグラフィック技術を採用できることは、当業者には明らかである。

【0106】

サンプルが塗布されていない通常の動作中、ポート441a内に例えば図3Bに示したようなSMAコネクタ360を通して、テスト信号が注入される。電磁的なカップリングを介して、テスト信号の電磁界部分が、入力ラインセグメント442aと出力ラインセグメント442bとの間の容量型ギャップ444を横切って伝搬する。容量型ギャップ444は、D.C.電圧および電流の伝送が、入力と出力との間を通過するのを防止する。次いでテスト信号は出力ポート441bで処理のために回収される。ギャップ444の幅および隔離距離、入力および出力ラインセグメント442aおよび442bのインピーダンス、支持体445の誘電定数、および、動作周波数は、入力ポート441aと出力ポート441bとの間で転移される信号出力量に影響を与えることになる。容量型ギャップ回路440は、テスト周波数範囲にわたって変化する信号応答を呈する。

【0107】

サンプルがギャップ444にわたって塗布されると、入力ラインセグメント442aと出力ラインセグメント442bとのエッジに沿って、MBRが形成される。MBRは、MBRは、ラインセグメント442a, 442bのエッジと直接に物理的に接觸しているか、または、ラインセグメント442a, 442bから物理的には隔離されているが、しかし電磁的にはラインセグメント442a, 442bにカップリングされていてよい。ラインセグメント442a, 442bへの分子結合を促進するために、ラインセグメント442a, 442b上に、リンカーおよび/またはマトリックス層が採用されてよい。

【0108】

上述のように、別個の各MBRは、異なる誘電特性を呈する。この誘電特性は、別個の周波数応答または「署名」を形成するのに役立つ。既知の分子サンプルの周波数署名は記憶され、未知の溶液中の分子構造を識別するのにあとで使用す

ることが可能である。同一クラス内の分子構造は、共通のテスト周波数範囲にわたって同様の周波数パターンを呈することがある。この場合、分子構造の同一性自体が判っているならば、テスターは、この未知の分子構造のクラスを識別することができる。

容量型構造を単一の検出素子として、または、本明細書中に挙げた1つまたは複数の検出素子の組み合わせで使用することにより、1つまたは複数の周波数における周波数応答を向上し、同調し、または離調することができる。

【0109】

誘電性信号経路

図4Eは、図3のテスト固定装置と併用するための誘電性信号経路バイオアッセイ450の側面図である。バイオアッセイ450は、誘電性支持体456上に形成された入力ラインセグメント451および出力ラインセグメント452と、入力ラインセグメント451と出力ラインセグメント452との間に配置された誘電性領域455とを有している。誘電性領域455の底面は、絶縁性支持体453によって形成されている。絶縁性支持体は、これに分子が結合するのを促進するために処理されている。絶縁性支持体453は、誘電性支持体456と同じかまたは異なる材料から成っていてよい。

【0110】

さらに、絶縁性支持体453はリンカーおよび/またはマトリックス層を有していてよく、このことは、1999年2月2日付けで出願した、同一出願人による係属中の米国特許出願第09/243,194号、表題「分子結合事象を検出するための方法および装置(Method and Apparatus for Detecting Molecular Binding Events)」に記載の通りである。この特許出願明細書を参考のため、本明細書中に引用する。図4Eの実施例の場合、バイオアッセイ450は、約3の誘電定数を有する0.55mm厚の石英ガラス基板からなる誘電性支持体456上に、標準的なフォトリソグラフィック技術を用いて加工されている。誘電性領域455は100オングストロームの深さを有し、入力ラインセグメント451と出力ラインセグメント452との間で2.5μm伸びている。

【0111】

誘電領域455にわたってサンプル456が塗布されると、絶縁性支持体453の表面に沿って、長手方向のMBR457が形成される。形成されたMBRは、テスト信号のための信号経路として役立つ。上述のように、MBR457は、テスト信号を変調する誘電特性を呈し、それぞれのMBR457は異なる誘電特性を呈することになる。この誘電特性もテスト信号を種々に変調することになる。変調された信号または「署名」は極めて独自性が高く、既知の分子結合事象を有するサンプルと連携することができる。これらの記憶された信号は、未知の溶液中の分子構造を識別するのにあとで使用することができる。同一クラス内の分子構造は、共通のテスト周波数範囲にわたって同様の周波数パターンを呈することがある。この場合、分子構造の同一性自体が判っているならば、テスターは、この未知の分子構造のクラスを識別することができる。

【0112】

I V. アレイテストシステムおよびバイオアッセイ

図4A～Eにおいていくつかの例を挙げて説明した多数のバイオアッセイデバイスは、高処理量分析を実施するために、 $N \times M$ アレイテスト構造に設けることができる。このような構造において、オリゴヌクレオチド、例えば単一のヌクレオチドの多形性、個々人の遺伝子、および核酸の比較的長い配列の迅速な特徴付けを可能にするために、 $N \times M$ 個の異なる結合事象を検出することができる。入力の数は、 $M=N$ の場合には出力の数と同じであることが可能であり、または、入力と出力との数が異なってもよい。

【0113】

アレイは、1つまたは複数のバイオセンサを支持体、例えば上述の0.5 mm²デバイス上に形成するために、コンベンショナルなフォトリソグラフィック法を用いて加工されてよい。あるいはアレイは、半導体プロセス技術、例えば二酸化シリコン(SiO₂)または砒化ガリウム(GaAs)プロセスを用いて加工されてよい。この実施例の場合、ウェハー内のアレイは、10¹, 10², 10³, 10⁴, 10⁵, 10⁶, 10⁷, 10⁸, 10⁹, 10¹⁰個のバイオアッセイデバイス/mmまたはこれらの間のいずれかの範囲を有してよい。

【0114】

A. テストシステム

図5は、本発明によるN x Mアレイテストシステム500の1つの可能な実施例を示す。テストシステムは、さらに下で説明するテスト固定装置600と、1 x N入力スイッチ530と、測定システム540と、M x 1出力スイッチ550と、コンピュータ560とを有している。測定システム540は入力テストケーブル524aと1 x N入力スイッチ530とを介して、テスト信号をテスト固定装置600に交信する。テスト信号は次いでM x 1出力スイッチ550と出力テストケーブル524bとを介して、テスト固定装置から受け取られる。コンピュータ560は制御バス550を介して、1 x N入力スイッチ530と、測定システム540と、M x 1出力スイッチ550とを制御する。

【0115】

1つの実施例の場合、測定システム540は、前述の測定システム240または本明細書中に記載した変化実施例のうちのいずれかから成っていてよい。同様に、入力および出力テストケーブル524aおよび524b、制御バス550およびコンピュータ560は、前述のものおよび／またはその変化実施例から成っていてよい。

【0116】

1 x N入力スイッチ530は、入力テストケーブル524aからN個のテスト固定信号入力のうちの1つへ、テスト信号を発する。M x 1出力スイッチ550は、M個のテスト固定出力のうちの1つから出力テストケーブルへ、テスト信号を発する。入力スイッチ530および出力スイッチ550は、あらゆる切換えまたは多重手段から成っていてよい。この手段は、所望のテスト信号の伝搬を支持することになる。

【0117】

例えば入力スイッチ530および出力スイッチ550は、低周波スイッチ(DC～2GHz)、例えばペンシルベニア州、フィラデルフィア在、Amplifonix, Inc. (www.amplifonix.com)によって製造されたスイッチから成っていてよい。あるいは高周波数(2～18GHz)で使用するためのスイッチ、例えばニューヨーク週、アミティヴィル在、General Microwave Corporation (www.generalmi

crowave.com)によって製造されたスイッチが採用されてよい。バイオアッセイデバイスと入力および出力スイッチ530および550との間の接続は、絶縁ケーブル、ワイヤボンド、または、動作テスト周波数に適した他のコンベンショナルな相互接続手段を使用して行われてよい。

【0118】

別の実施例の場合、入力および出力スイッチ530および550と、バイオアッセイアレイとが、モノリシック集積回路を形成する。例えば、バイオアッセイアレイが、G a A s 半導体プロセス技術を用いて加工される場合、入力および出力スイッチ530および550は、バイオアッセイアレイにカップリングされた、一体的に形成されたP I N ダイオードから成ってよい。さらにこれとは異なり、入力および出力スイッチ530および550は、入力および出力スイッチ530および550がバイオアッセイアレイに（ワイヤまたはリボンボンドを介して）接続された別個の構成部分であるような、一体的なアセンブリを形成してもよい。このような変化実施例の利点は、相互接続構造が小型化されるかまたは排除されることにより、これに関連する信号損を減じるかまたは排除することができるにある。

【0119】

上述のように、バイオアッセイアレイは、半導体プロセス技術を用いてウェハー形状に加工することができる。この実施例の場合、アレイテストシステム500は、ウェハープローブテストステーション、例えば、前述の入力および出力スイッチ530および550とコンピュータ560とを有するかまたはこれらにカップリングされた、オレゴン州、ビーバートン在Cascade Microtech, Inc. (www.cascademicrotech.com)によって製造されたステーションから成ってよい。ウェハープローブステーションは1つまたは複数のカードを利用する。各カードはバイオアッセイアレイへの低い損失、低V S W R の信号相互接続部を提供することができる。

【0120】

プローブカードは、それぞれ遠隔配置された入力スイッチ530および/または出力スイッチ550へのN個および/またはM個の信号相互接続部を提供する

のに使用することができる。あるいは、入力スイッチ530および／または出力スイッチ550は、バイオアッセイアレイと共にモノリシック加工されてもよい。この場合、プローブカードは、測定システム540への単一の入力および／または出力信号転移を可能にする。この後者の実施例の場合、プローブカードは、モノリシック形成されたスイッチヘスイッチ制御電圧を供給するためのプローブを有している。

【0121】

この実施例とは異なり、またはこれに加えて、測定システム540は時間ドメイン反射計（TDR）システム、例えば前述のネットワークアナライザと共に選択的に利用可能なシステム、または、引用特許明細書、米国特許出願第09/243,194号、表題「分子結合事象を検出するための方法および装置（Method and Apparatus for Detecting Molecular Binding Events）」に記載のシステムを有していてよい。

【0122】

B. アレイテスト固定装置

図6は、本発明によるN×Mアレイテスト固定装置600の1つの可能な実施例の側面図を示す。図3に示した単一経路テスト固定装置300の構成と同様に、テスト固定装置600は、頂部プレート602と、底部プレート604と、前述の反応容器610を備えたサンプルキャビティ640と、バイオアッセイデバイス700（図7において下でさらに説明する）と、底部スペーサ630との各素子を有している。N×Mアレイテスト固定装置の実施例では、サンプルキャビティ640と、これに対応して反応容器610と、底部スペーサ630との寸法は、バイオアッセイデバイス700を収納するように形成されている。

【0123】

バイオアッセイデバイス700は、図3に示したバイオアッセイデバイス300よりも大きいかまたは小さくてよい。各アレイ素子は、モノリシック状に堆積された小さな構造を有することにより、各アレイ素子の信号経路と電磁的に交信する付着サンプル部分を保持するために、信号経路にわたって切欠き領域を形成する。別の実施例の場合、バイオアッセイデバイスレベルでサンプルキャビティ

を加工するのに、MEMS（マイクロ電子機械加工システム）技術が用いられてよい。

【0124】

図6Bは、N×Mアレイテスト固定装置600の端面図を示している。テスト固定装置600は、N個の入力コネクタ660a₁～660a_nと、M個の出力コネクタ660b₁～660b_mとを有している。固定装置600はまた、N個の入力伝送ライン（図示せず）を有している。これらのラインは、固定装置のN個のコネクタ660a₁～660a_nと、バイオアッセイのN個の入力との間における信号転移を可能にする。テスト固定装置600はさらに、M個の出力伝送ライン（図示せず）を有している。

【0125】

これらのラインは、バイオアッセイのM個の出力と固定装置のM個の出力コネクタ660b₁～660b_mとの間における信号電位を可能にする。入力および出力伝送ラインは、絶縁された導電性ワイヤ、マイクロストリップ、ストリップライン、誘電性支持体上に堆積された共面導波路伝送ライン、または、他のコンベントショナルな周知の信号経路アーキテクチャとして実現することができる。伝送ラインの選択は、テスト周波数帯域およびバイオアッセイデバイスの入力および出力ポート密度によって影響を受ける。

【0126】

C. バイオアッセイアレイ

図4A～図4Eに示した構造のいずれかまたは全ては、本発明によるバイオアッセイアレイを形成するのに使用することができる。アレイは別個の誘電性支持体部分上に加工されてよく、または、半導体プロセス技術を用いてウェハー形状に加工されてもよい。アレイは、単一デバイス上に2つ以上の上述の構造を有し、標準的なスイッチ技術のいずれかを介して、診断装置にカップリングされてよい。さらに、アレイ素子として、トランジスタのような能動素子が使用されてもよい。このことについてはさらに下で説明する。

【0127】

デバイス自体のあらゆる数のアドレスで、一次元、二次元および3次元的なア

ドレス指定が用いられてよい。各アドレスは論理ゲートとして作用するように形成されていてよい。この論理ゲートにおいて、MBR中の結合またはその他の変化に関してバイナリ決定が行われることにより；3つ以上の状態、例えば共鳴器の帯域制限されたシステム内の周波数のシフトについて決定することができ、または；連続した特性、例えば電圧、位相、周波数または上述の他のパラメータのいずれかを測定することができる。

【0128】

図7Aは、本発明による集積バイオアッセイアレイ700の1つの実施例を示す。集積アレイ700には、測定システム540の信号源を介してテスト信号が供給される。アレイ700は集積された $1 \times N$ 入力スイッチと $M \times 1$ 出力スイッチを有している。これらのスイッチは半導体加工プロセス中、モノリシック状に形成される。入力の数は、 $M = N$ の場合には出力の数と同じであることが可能であり、または、入力と出力との数が異なってもよい。

【0129】

$1 \times N$ 入力スイッチは、到来するテスト信号を所望のアレイ素子に発する。アレイ素子内のMBRは、MBRを構成する分子結合事象の誘電特性に従ってテスト信号を変調する。 $M \times 1$ 出力スイッチ550は、変調されたテスト信号を測定システム540の検出器に発する。測定された信号応答を見極めるために、テストシステム540のアナライザが入力テスト信号と変調されたテスト信号とを比較する。二ポートデバイスとして各アレイ素子を図示したが、これとは異なり、一ポートまたは多ポートのアレイ素子を使用できることは当業者にとっては明らかである。

【0130】

上述のように、アレイ700、入力スイッチおよび出力スイッチは、別個の構成部分として加工されるか、または、ウェハーの形状で加工されて、用途に応じて程度を変えて集積されてよい。図示の実施例の場合、アレイ700、入力スイッチおよび出力スイッチは、半導体ウェハー上にモノリシック状に形成されている。別の実施例の場合、入力スイッチおよび出力スイッチは、アレイ700とは別個にモノリシック状に形成されて、ワイヤまたはリボンボンドを介して接続さ

れている。さらに別の実施例の場合、入力スイッチ、出力スイッチおよびアレイ700は、それぞれ別個のユニットである。他の配置関係も可能であることは当業者には明らかである。

【0131】

図7Bはアレイ素子の1つの実施例を、直列に接続された電子切換式の電界効果形トランジスタ(FET)710として示している。FET710は、GaAsプロセスを用いて加工された金属半導体電界効果形トランジスタ(MESFET)であってよい。他のトランジスタ形状は、例えば一例を挙げるならば、高電子移動度トランジスタ(HEMT)、ヘテロ構造FET、均質またはヘテロ接合バイポーラトランジスタ、または、PINダイオードのようなPN接合デバイスである。同様にこれらとは別に、またはこれらに加えて、他の能動アレイ素子または受動アレイ素子が使用されてよい。

【0132】

図7Bの実施例の場合、入力ポート711および出力ポート715として、それぞれFET710の源端子712とドレン端子714とが採用されている。MBR716が源端子712とドレン端子714との間に平行な経路を提供するように、サンプルがFET710にわたって塗布される。FET710は、ターンオフ時に、MBR716を通る抵抗よりも極めて高い源抵抗(R_{ds})を逃がすように形成されている。この場合、信号経路は、テスト信号を変調するMBR716を通って伝播する。

【0133】

変調されたテスト信号は(DCバイアスを除去するためのDCブロックキャパシタを通して)回収され、MBR716中で生じた分子結合事象を検出しつつ/または識別するために、入力テスト信号と比較される。FET710が活性化されると、FET710はMBR716の抵抗と比較して著しく低い R_{ds} を提供する。この場合、MBR716は効果的に切り換えられて信号経路から外れ、信号はMBRによって影響されずに広く伝搬する。従ってスイッチを開閉するだけで、アレイ素子をアドレス指定できる。

【0134】

図7Cは、光学的に切り換えられるアレイ素子として使用されたFETの別の実施例を示す。FET720は、図7Bにおいて説明したFET710と同様に接続されており、光電性のトランジスタ、ダイオードまたは他の光電性デバイスから成っていてよい。ゲート接合部722は例えば通常の日光、レーザ、発光ダイオード(LED)、または、FET720が高感度を有する波長を備えた他の源で照射されてよい。入射光はFET720を活性化してMBR722を信号経路から外すように切り換える。FET720が不活性化されると、テスト信号はMBR722を通って伝播し、これにより変調される。変調されたテスト信号は(図示していないDCブロックキャパシタを介して)回収され、MBR722中の分子結合事象の存在を見極め、かつ/または、分子結合事象を認識するために分析される。

【0135】

図7Dは、2つ以上のFETが直列接続された、図7Bおよび7Cの拡張例を示す。アレイ750は、第1のテスト経路753を有している。この経路に沿ってアドレス指定可能なスイッチ753aおよび753cがカップリングされている。1つの実施例において、アドレス指定可能なスイッチは、上述の電子制御または光制御式のMESFETである。アレイ経路753はさらに、サンプル領域753bおよび753dを有している。これらの領域のそれぞれは、対応するアドレス指定可能なスイッチ753aおよび753cに、平行な信号経路を提供する。

【0136】

上述のように、アドレス指定可能なスイッチ753aおよび753cは、サンプル領域753bおよび753dを信号経路に対して出し入れするように切り換え動作する。従って、特定列が、単一検定部位がインピーダンスのミスマッチとして現れるような伝送経路にさせられる。インピーダンスのミスマッチの性質は、MBRにおける結合および他の変化に関連する。他の低損失スイッチ(図示せず)を用いて、信号経路754のような付加的な信号経路がアレイ内に含まれ、他の経路に交差結合(cross-strap)されてよい。

【0137】

これにより、テスト信号が信号経路753および754相互間を伝搬することが可能になる。アレイ750ないにテスト信号を注入し、アレイ750からテスト信号を受け取るのに、入力スイッチ752と出力スイッチ755とが使用される。二次元的なアレイデバイスを提供するために、上述のアレイがあらゆる数のN×M個のエレメントに拡張され得ることが、当業者には明らかである。

【0138】

図7Eは、図7Dに示したアレイの回路等価モデルを示す。スイッチインピーダンスZSは、信号経路ZOの基準インピーダンスと密接に適合するように形成されている。アッセイインピーダンスZI, Jは、スイッチインピーダンスまたは基準インピーダンスのいずれかと大きく異なるように形成されている。従ってアッセイインピーダンス中の小さな変化は、所与の列の電気的な特性を支配し、これにより簡単に検出可能になる。インピーダンスの正確な値は、特定のアレイに対応する設計基準に依存するが、しかし、或る一定の工学一般原理が当てはまる。例えば、負荷（検出器）に対する供給電力に関する最大効率は、適合されたインピーダンス設計と共に得られ、基準インピーダンスはしばしば50Ωが採用される。

【0139】

別の実施例の場合、各アレイ素子は、ゲーティング条件に応じて、2つの可能な状態のうちの一方を占めることができる論理ゲートから成っていてよい。例えば、ゲーティング条件は、特定の結合事象が生じたか否かであってよい。このような条件は、デバイス表面上の特定の捕獲プローブに対して行われる核酸物質のハイブリッド形成であってよく、または、特定の薬物受容体相互作用であってよい。いずれの場合においても、MBR中の結合事象または構造変化がゲーティングをトリガするように、デバイスは工学的に処理されている。本質的には、あらゆる回路パラメータの変調もゲーティングをトリガしてよく；必要なのは、回路パラメータが変調されたか否かに関して決定するために、所要のハードウェアおよびソフトウェアが存在することである。

【0140】

一例として、共鳴構造のような所与のシステムの特徴的な周波数をモニタリン

グすることができる。特定の結合事象としてのこの周波数のシフトは、論理状態を信号化する変調として使用することができる。結合との関連において変化するなどのパラメータも、論理ゲートをトリガするのに使用されてよい。このようなパラメータには、周波数、電圧、電流、電力、位相、遅延、インピーダンス、リアクタンス、アドミタンス、コンダクタンス、抵抗、キャパシタンス、インダクタンスまたは他のパラメータが含まれるが、これらに限定されるものではない。

図7 Fは、二次元的なバイオアッセイアレイ770の1つの実施例を示す。図示のように、アレイ770は、テスト信号を入出力するための第1の入出力(I/O)軸772と、第2のI/O軸774とを有している。

【0141】

アレイは、コンベンショナルな外部診断用ハードウェアとのインターフェイスを備えている。このハードウェアは、1つまたは複数の適切な周波数を生成して検出し、次いで、この周波数を上述のポートを通し、マルチプレクサを介してアッセイアレイへ、かつアッセイアレイから交信する。外部に支持されたこのようなシステムは、あらゆる数の電磁源、例えばベクトルおよびスカラネットワークアナライザ、TDRアナライザのような時間ドメインデバイス、および他のパルス化技術から成っていてよく；ベクトルおよびネットワークアナライザを含む、本明細書中に述べた検出スキームのいずれかを利用してよく；標準的および非標準的なマルチプレックス技術を介してアッセイアレイへ、かつアッセイアレイから信号を提供するためのあらゆる数の周知の技術を用いてよい。

【0142】

一般的に、このようなチップは、標準的な半導体チップ処理手段を用いて加工されてよい。このような構造は、一ポート形、二ポート形で使用されてよく、また三ポート以上が利用されてもよい。

【0143】

V. 用途

上述のバイオアッセイ、テスト固定装置およびテストシステムは、サンプル中で発生する特定の分子結合事象を検出しあつ／または識別するために、多数の用途において使用することができる。可能な用途のうちのいくつかを下に概説的に

述べる。

【0144】

核酸化学用途

この用途のバイオセンサおよびテストシステムは、結合複合体、例えば、核酸プローブと核酸標的との間に形成されたハイブリッド化複合体を分析するのに使用されてよい。例えば、バイオアッセイセンサおよびテストシステムは、サンプル中の1つまたは複数の標的核酸の存在を検出することを伴う診断法、量的法、キネティック法、および種々の他のタイプの分析、例えば配列チェック、発現分析およびドウノボ配列に使用されてよい。これらの方法のうちの1つまたは複数の方法は、標識を使用せずに核酸相互間の結合を検出することもできる。

【0145】

或る方法は、前述のバイオアッセイアレイとテストシステムとを利用することにより、高処理量を可能にするという利益を得る。他の方法は、スペクトルプロファイルを使用することによって、異なるタイプのハイブリッド化複合物相互間の区別を可能にするという利益を得る。これらの方法はさらに、同時出願された引用特許出願明細書、表題「核酸分析法(Method of Nucleic Acid Analysis)」(代理人登録番号019501-000600)に記載されている。

【0146】

薬物発見用途

この用途のバイオセンサおよびテストシステムは、タンパク質と種々の異なるタイプのリガンドとの間の結合事象を検出するのに使用することができる。本発明のバイオアッセイセンサおよびテストシステムは、リガンドのライブラリをスクリーニングして、これにより、当該タンパク質に結合したリガンドを識別するのに使用されてよい。

【0147】

このような方法は、例えば薬物スクリーニングプログラムにおいて特定の有用性を有する。加えて、バイオアッセイセンサおよびテストシステムは、既知のタンパク質に結合する特定のリガンドの存在、または、既知のリガンドに結合する特定のタンパク質の存在を検出するための診断方法と共に、同様に採用すること

ができる。これらの方はさらに、同時出願された引用特許出願明細書、表題「タンパク質結合事象分析法(Method for Analyzing Protein Binding Events)」(代理人登録番号019501-000700)に記載されている。

【0148】

図8は、図4Eに示したバイオアッセイデバイス450の誘電性信号経路に非特異的に結合するタンパク質の効果の例を示したものである。初め、誘電性ギャップ領域455(図4E)に緩衝液(d-PBS)が置かれ、周波数範囲45MHz~40GHzにわたって、基準挿入損が測定された。次いで、高濃度のウレアーゼを含有するサンプル溶液が加えられ、ウレアーゼが誘電性ギャップ領域455内の石英と結合するのが可能になった。次いで誘電領域455はd-PBSで洗浄され、同一周波数範囲にわたって、第2の挿入損の測定が行われた。第2の測定値は第1の測定値と比較され、その結果明らかとなった、信号の周波数応答における変化を図8に示す。

【0149】

以上のように、本発明の可能な実施例について説明してきたが、種々の代替実施例、変化実施例および等価の例を使用して、本発明を等しく適用することができる。従って、上記記載内容は、本発明のいくつかの可能な実施例としてだけみなすべきであり、本発明の範囲は、添付の請求の範囲によってほぼ規定される。

【図面の簡単な説明】

【図1】

本発明によるバイオアッセイシステムの1つの実施例を示す図である。

【図2】

本発明による単一経路システムの1つの可能な実施例である。

【図3A】

本発明によるテスト固定装置を様々な方向から見た状態で示す図である。

【図3B】

本発明によるテスト固定装置を様々な方向から見た状態で示す図である。

【図3C】

本発明によるテスト固定装置を様々な方向から見た状態で示す図である。

【図3 D】

本発明によるテスト固定装置を様々な方向から見た状態で示す図である。

【図3 E】

本発明によるテスト固定装置を様々な方向から見た状態で示す図である。

【図3 F】

本発明によるテスト固定装置を様々な方向から見た状態で示す図である。

【図4 A】

図3のテスト固定装置と併用するための標準マイクロトリップ伝送ラインバイオアッセイを示す頂面図である。

【図4 B】

図3のテスト固定装置と併用するための曲折状伝送ラインバイオアッセイを示す頂面図である。

【図4 C】

図3のテスト固定装置と併用するためのリング共鳴器バイオアッセイを示す頂面図である。

【図4 D】

図3のテスト固定装置と併用するための容量性ギャップバイオアッセイを示す頂面図である。

【図4 E】

図3のテスト固定装置と併用するための誘電性信号経路バイオアッセイを示す側面図である。

【図5】

本発明によるN x Mアレイテストシステムの1つの可能な実施例を示す図である。

【図6 A】

本発明によるN x Mアレイテスト固定装置を種々の方向から見た状態で示す図である。

【図6 B】

本発明によるN x Mアレイテスト固定装置を種々の方向から見た状態で示す図

である。

【図7 A】

本発明によるバイオアッセイアレイの1つの実施例を示す図である。

【図7 B】

直列に接続された電子切換式の電界効果形トランジスタから成る、本発明によるアレイ素子の1つの実施例を示す図である。

【図7 C】

直列に接続された光切換式の電界効果形トランジスタから成る、本発明によるアレイ素子の1つの実施例を示す図である。

【図7 D】

直列に接続された2つのFET装置の2つの経路から成る、本発明によるアレイの1つの実施例を示す図である。

【図7 E】

本発明による、図7 Dに示したアレイの回路等価モデルを示す図である。

【図7 F】

本発明による二次元的なバイオアッセイアレイの1つの実施例を示す図である。

。

【図8】

図4 Eに示したバイオアッセイデバイスの誘電信号経路に非特異的に結合するタンパク質の効果の例を示す図である。

【図 1 A】

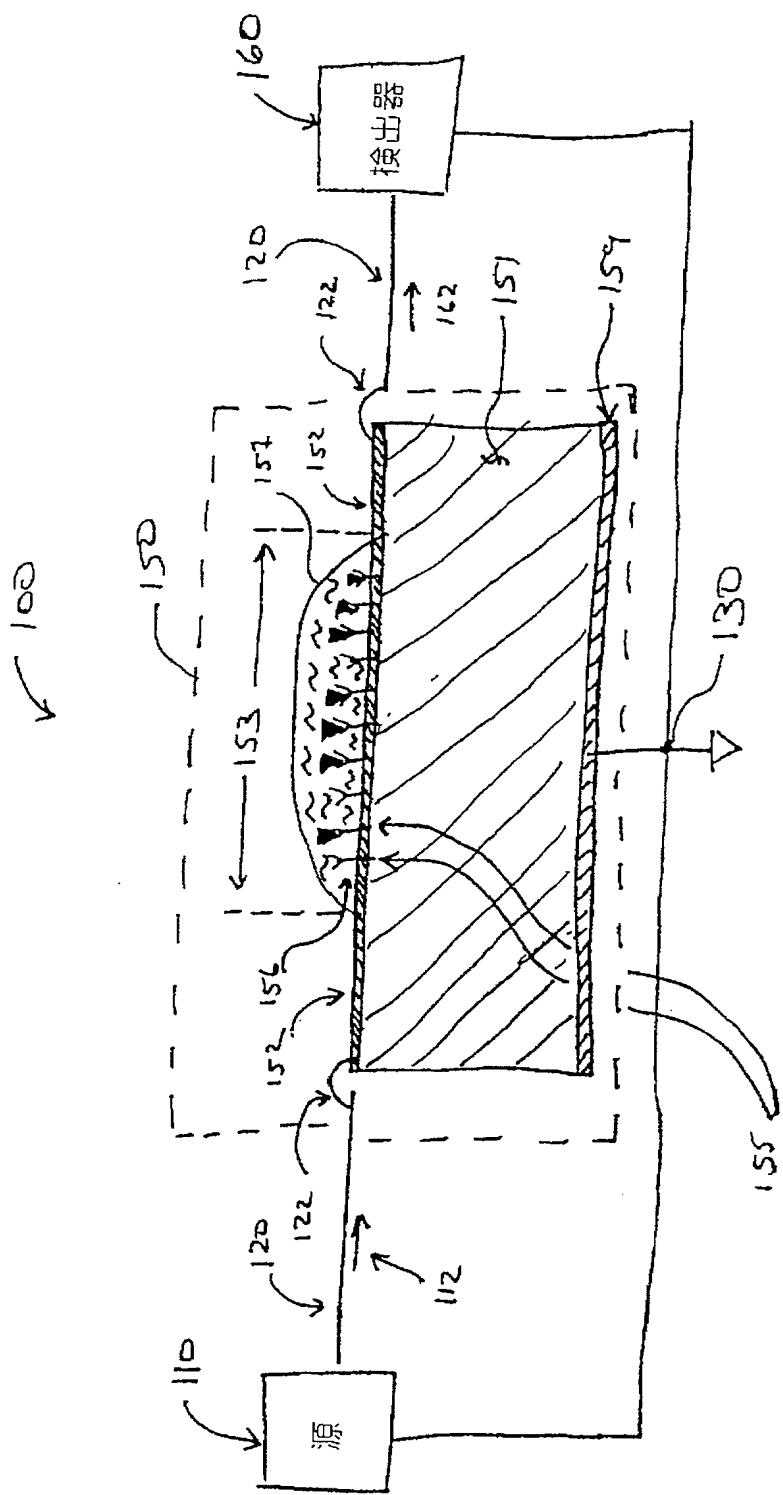


FIG. 1A

【図 1 B】

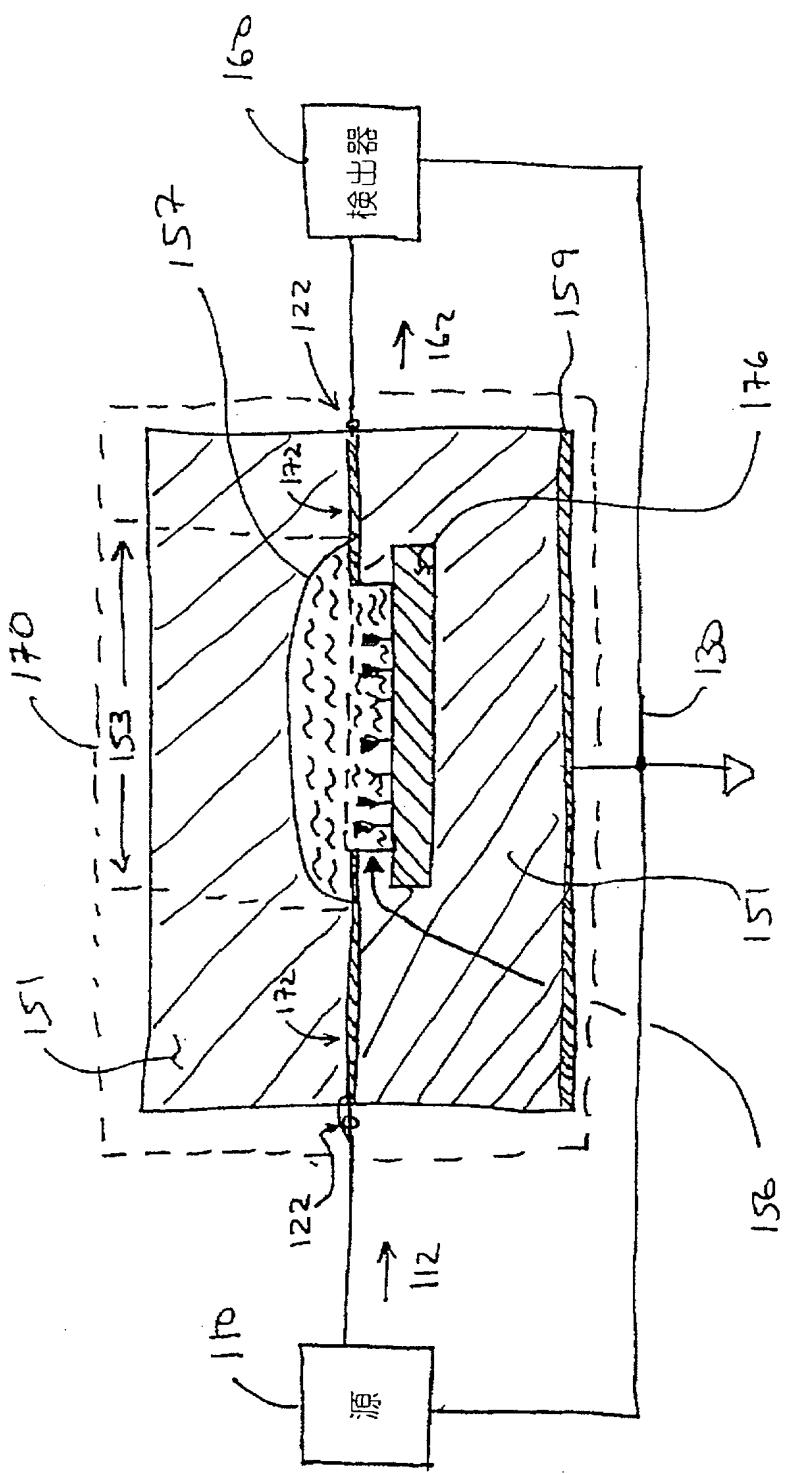


Fig. 13

【図2】

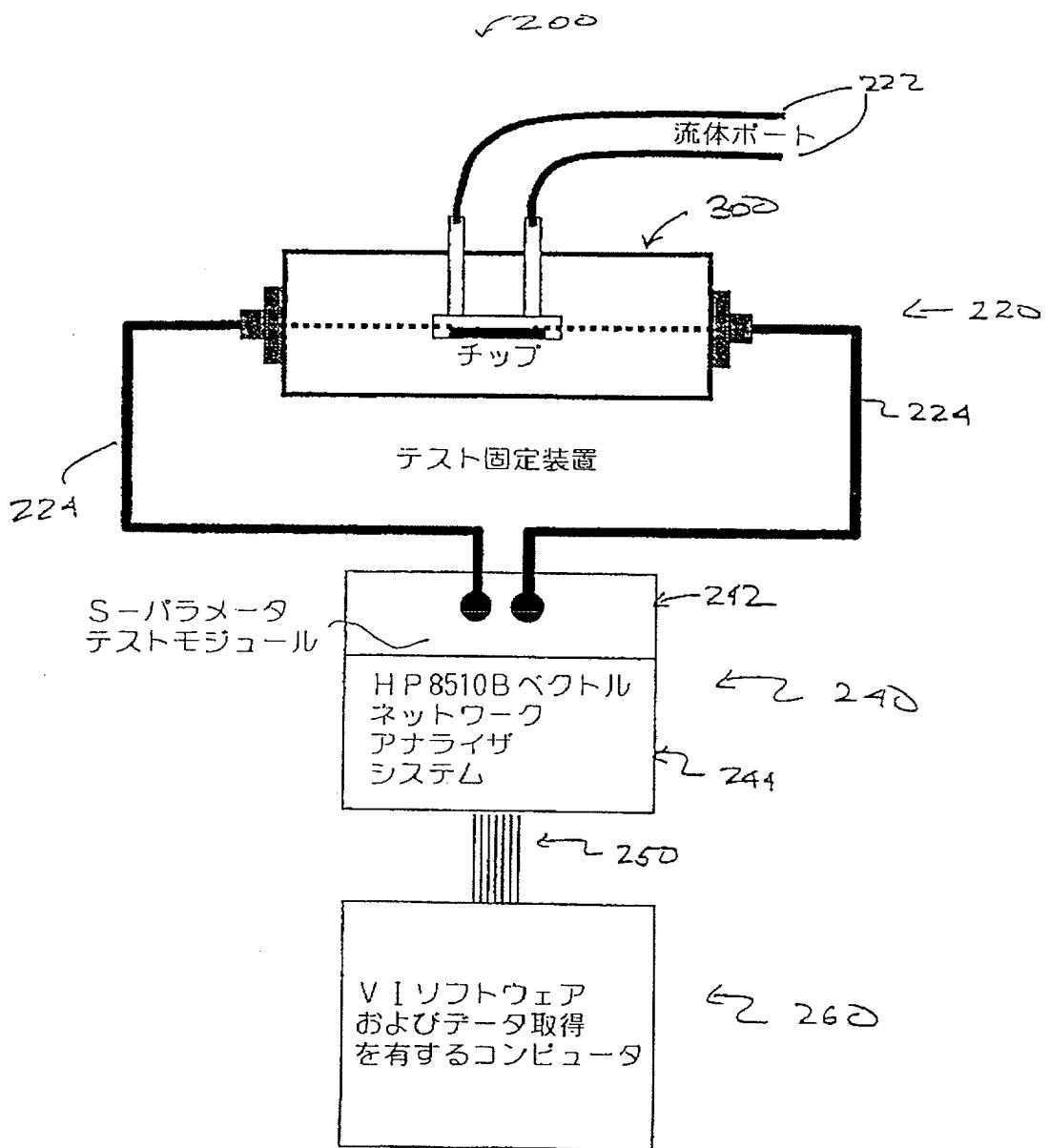


Fig. 2

【図3 A】

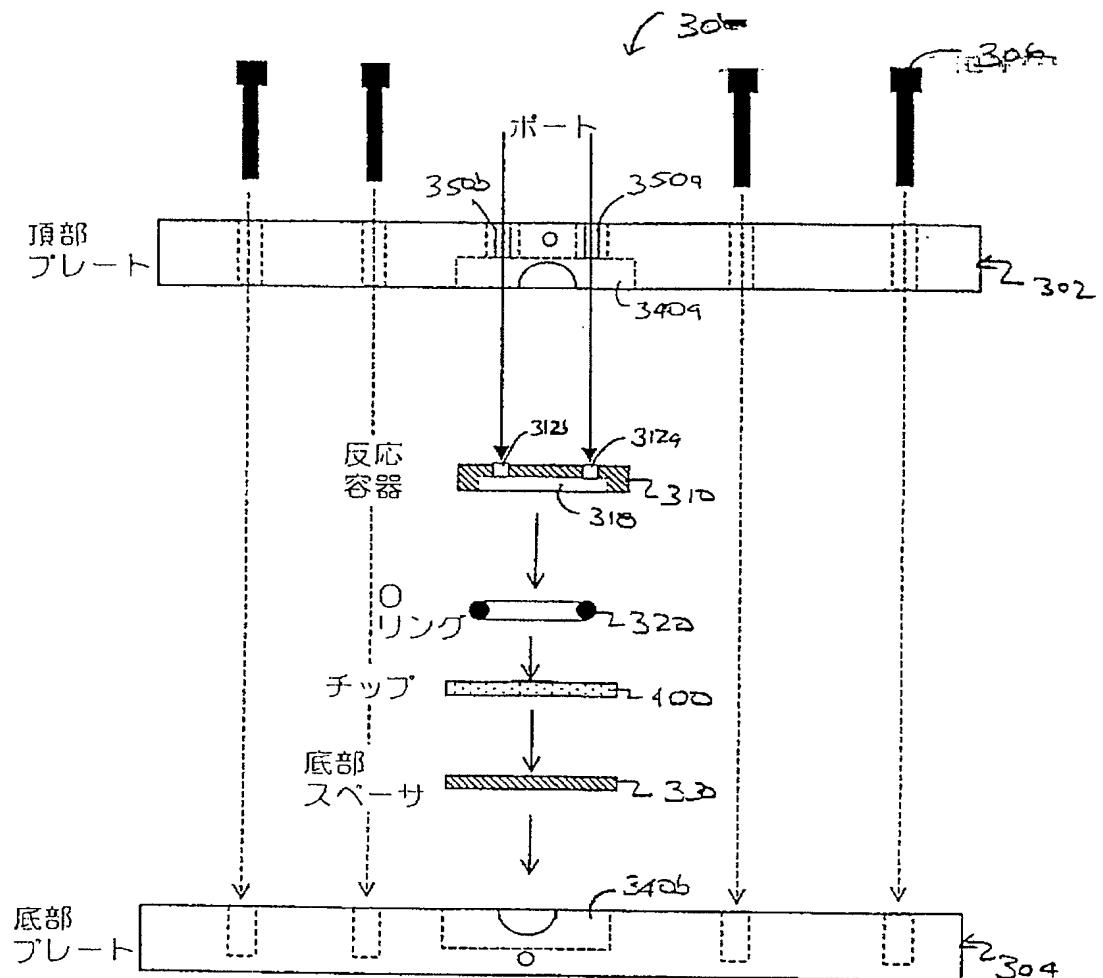


Fig. 3A

【図3 B】

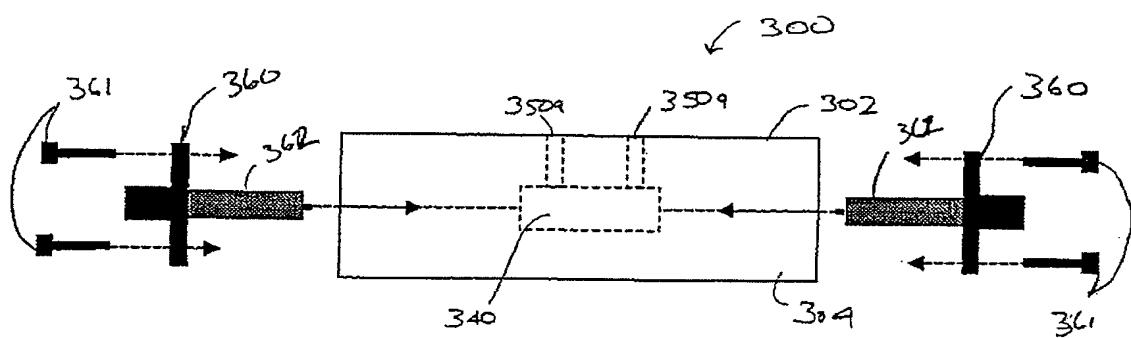
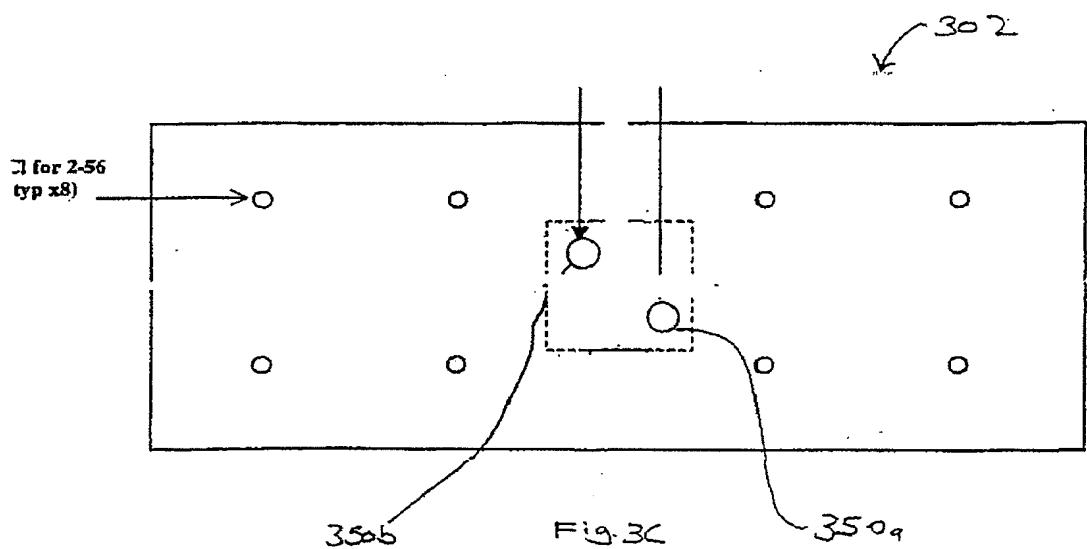
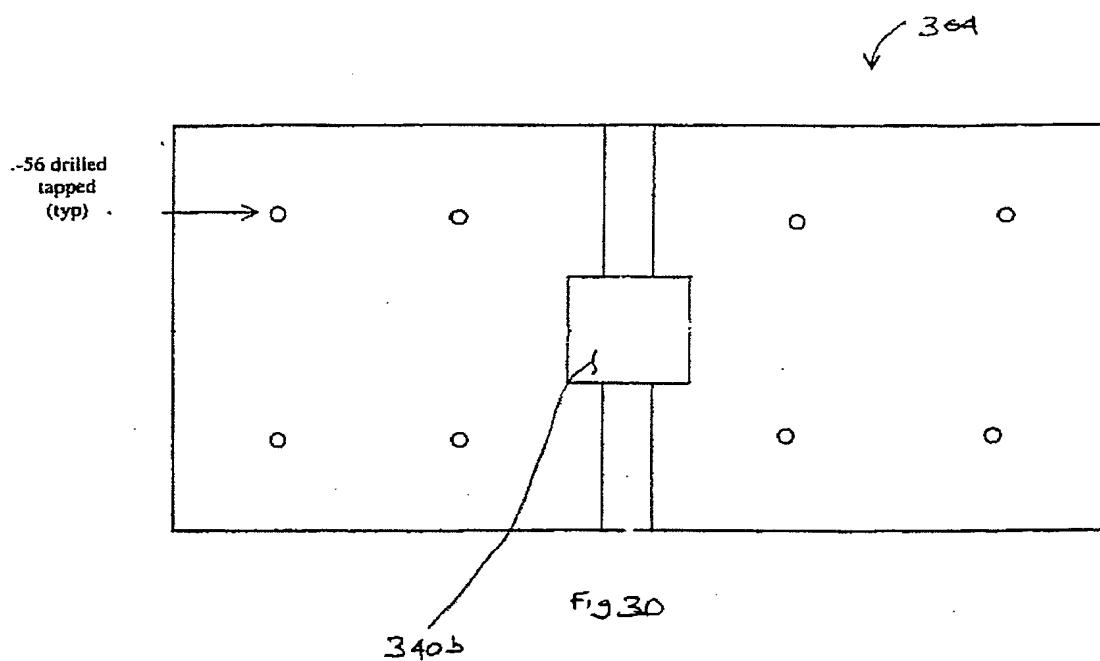


Fig. 3B

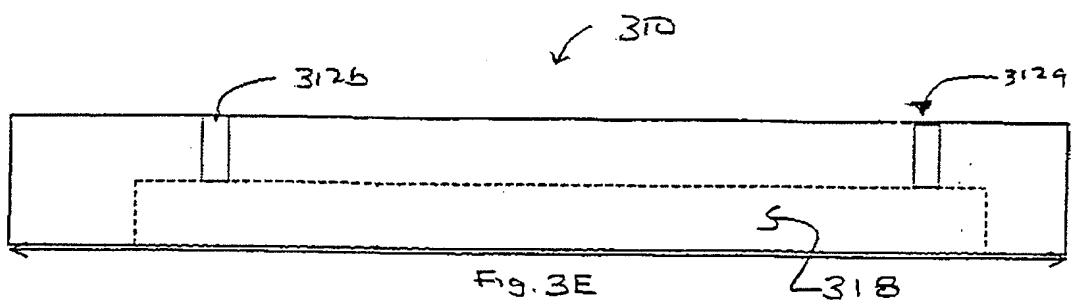
【図3C】



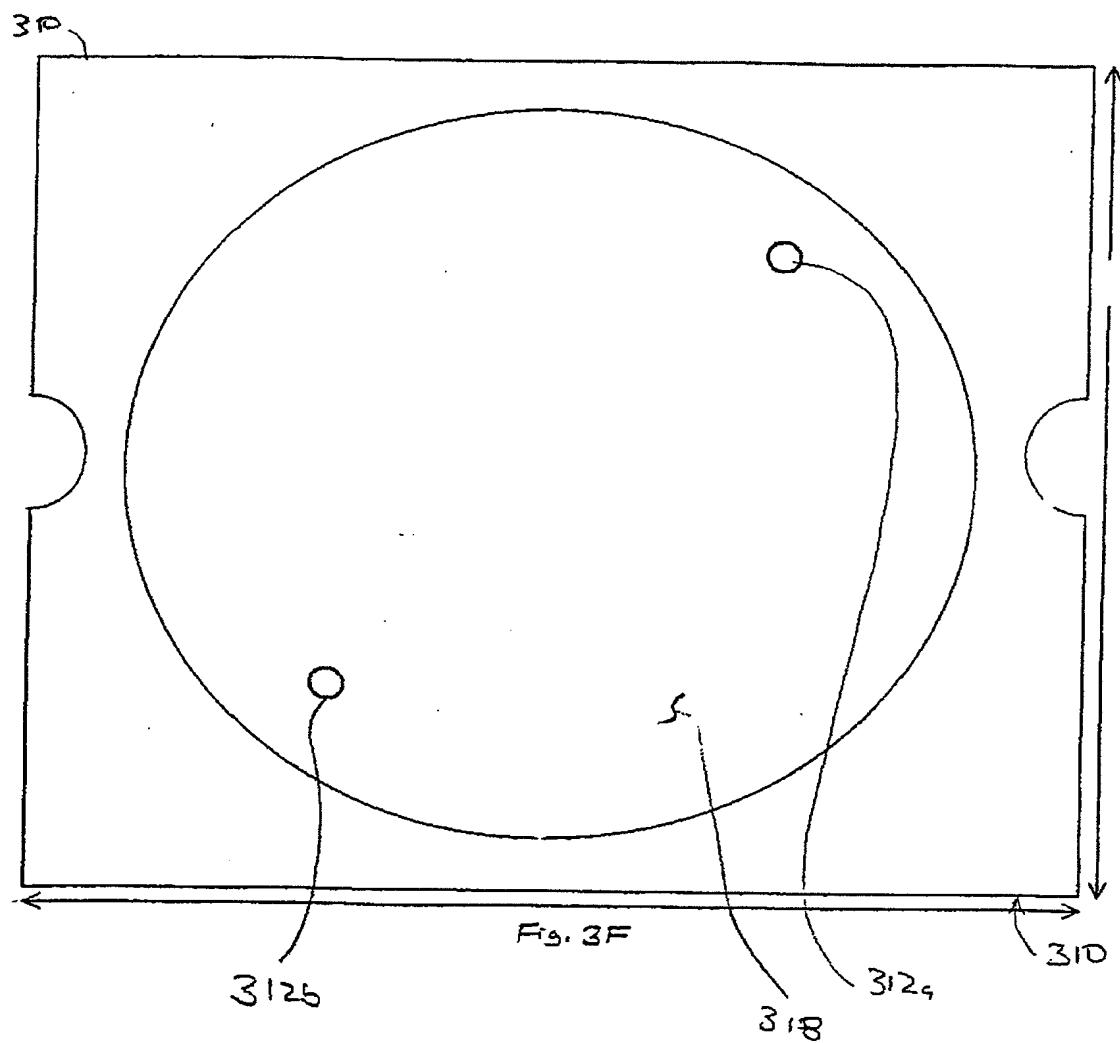
【図3D】



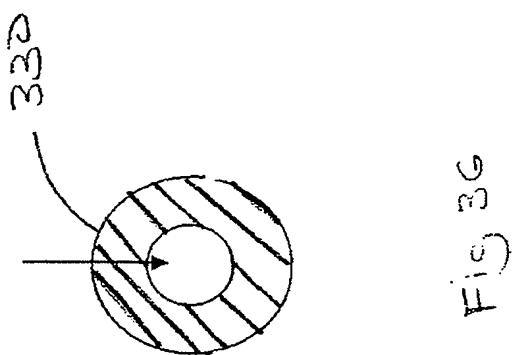
【図3E】



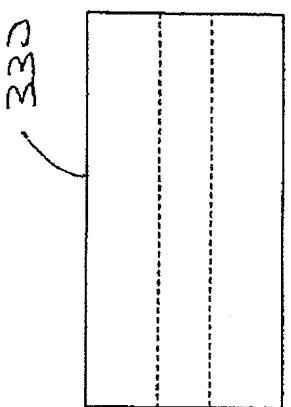
【図3F】



【図3G】



【図3H】



【図3Ⅰ】

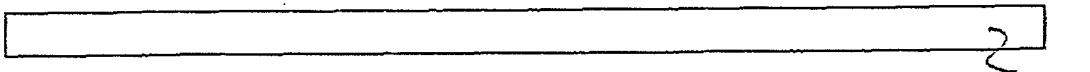
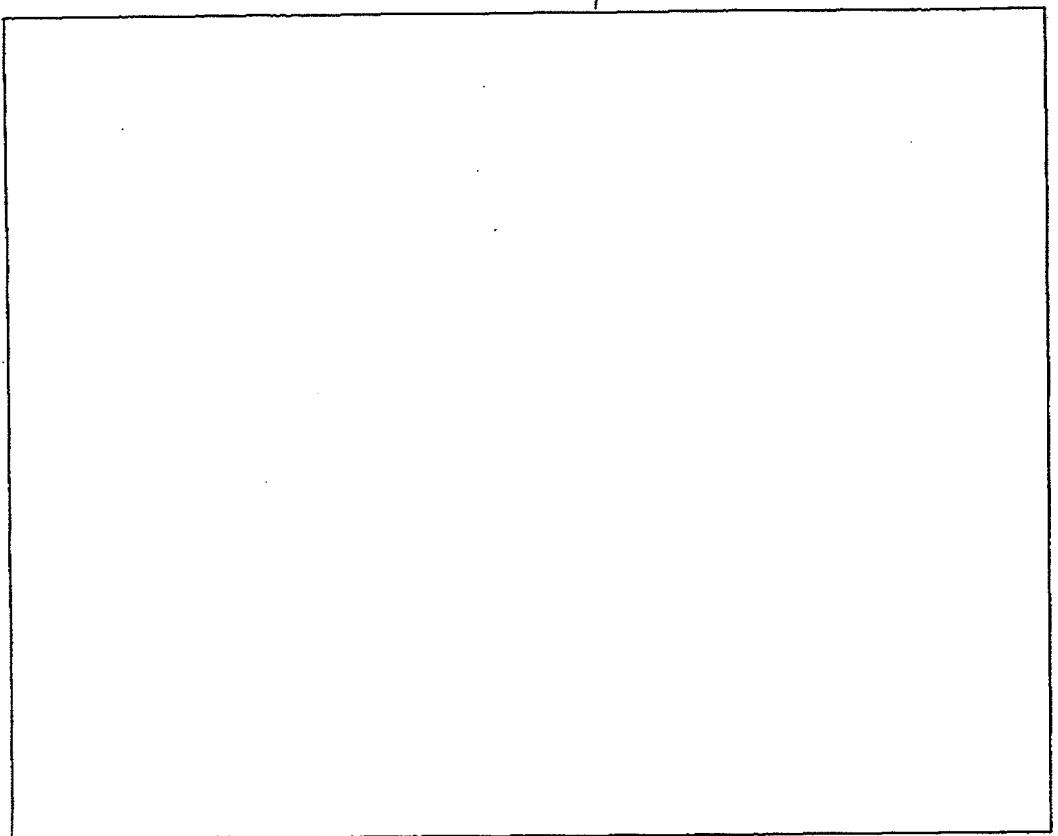


Fig. 3Ⅰ.

【図4A】

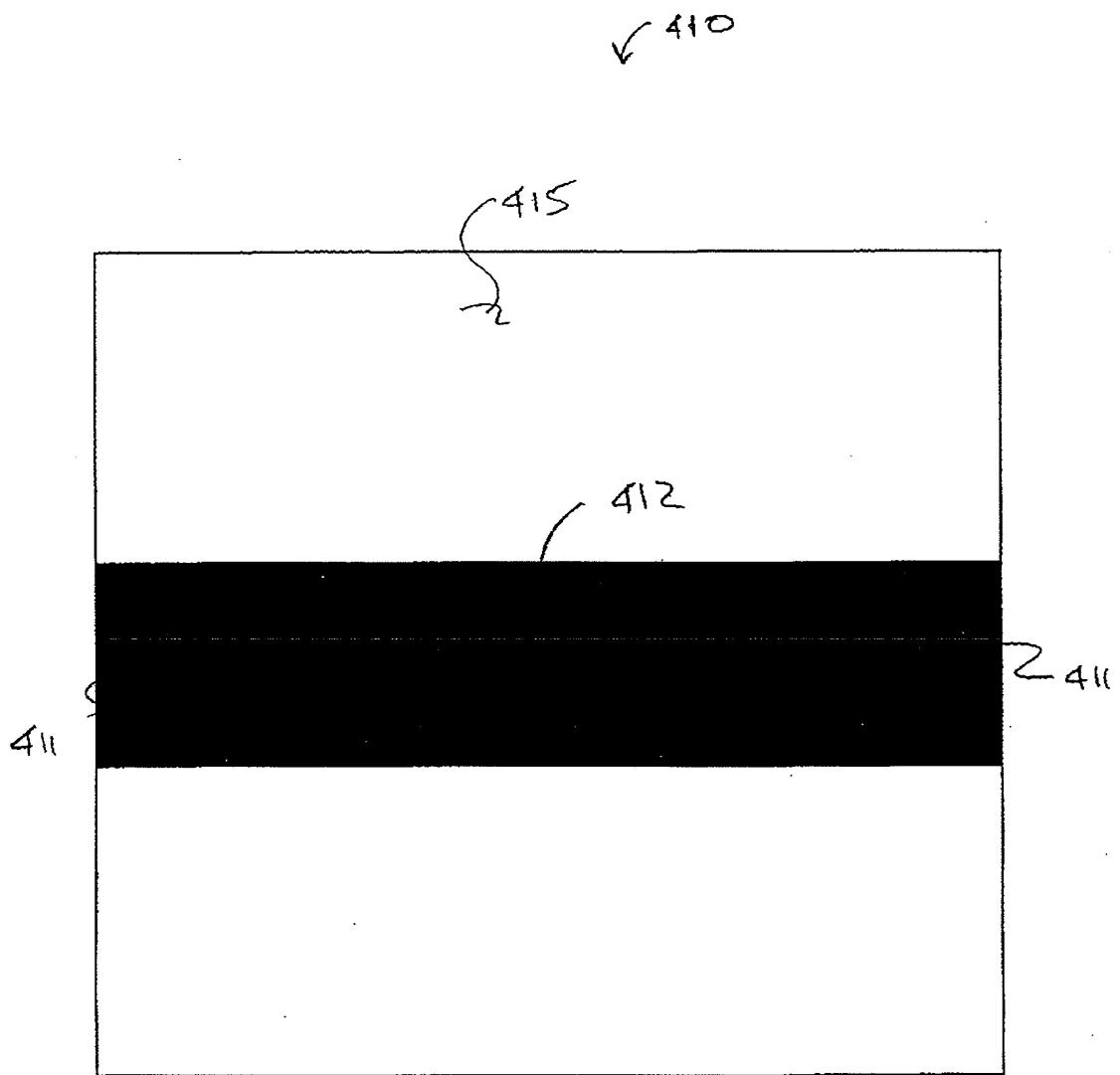


Fig. 4A

【図 4 B】

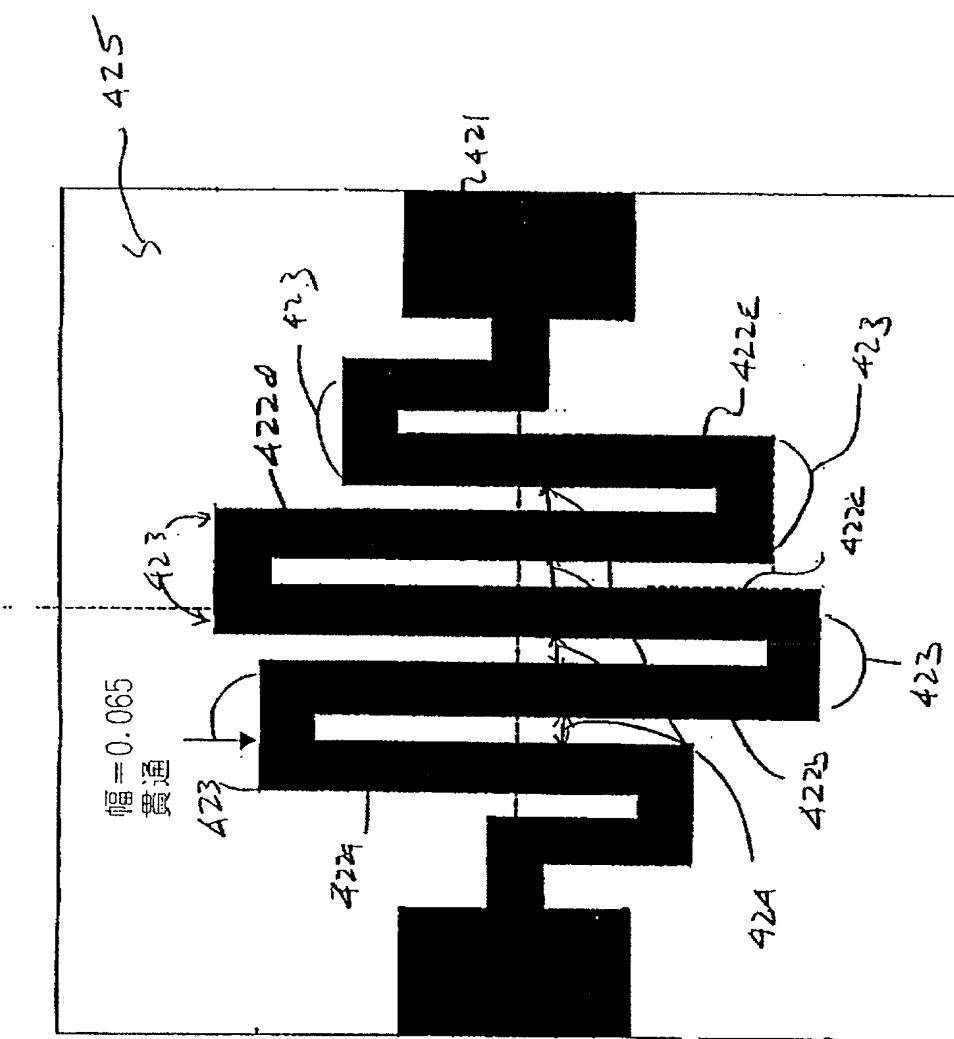


Fig. 4B

【図4C】

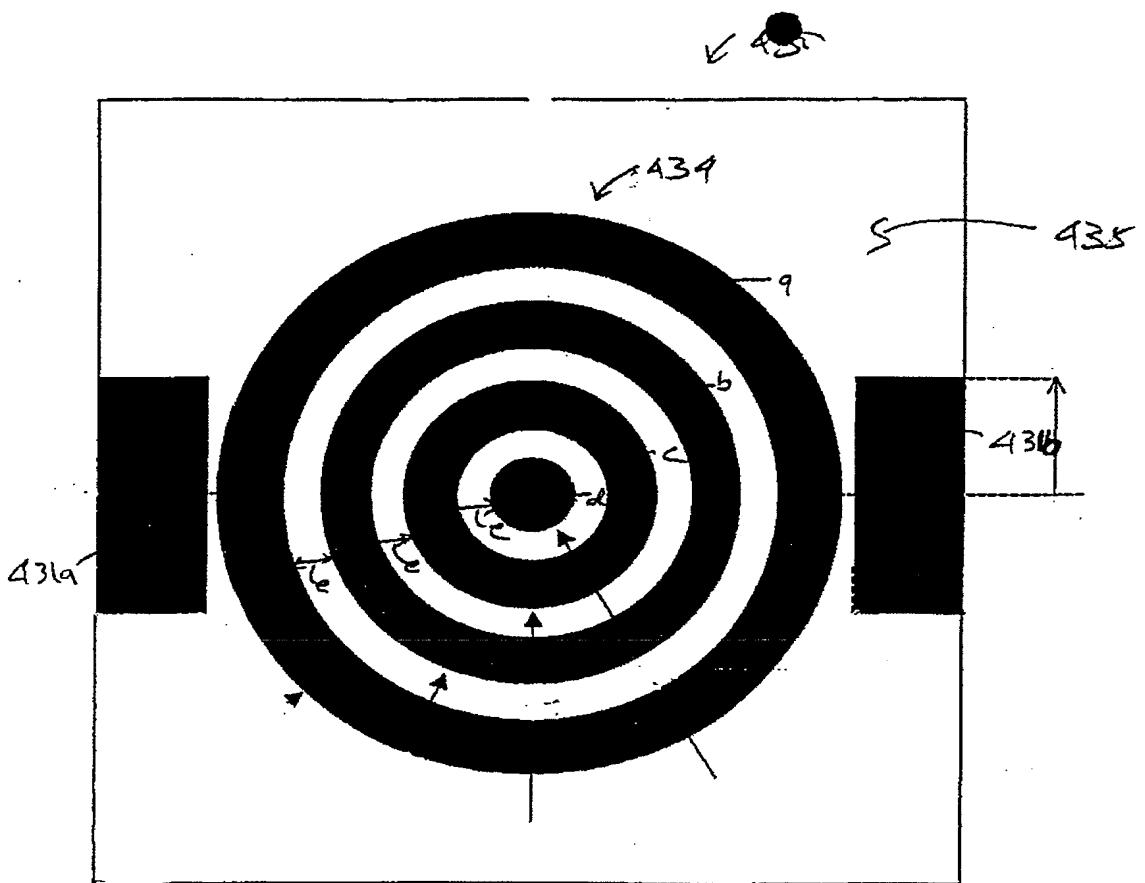


Fig. 4C

【図4D】

↙ 440

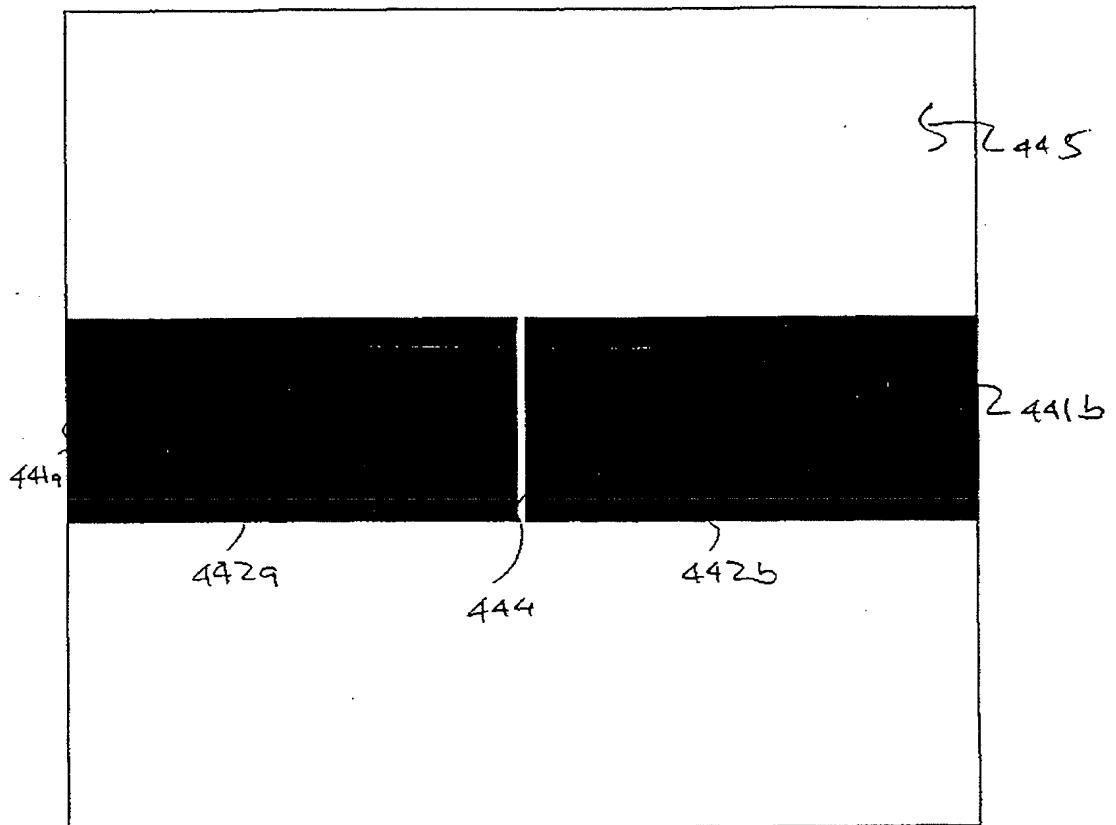
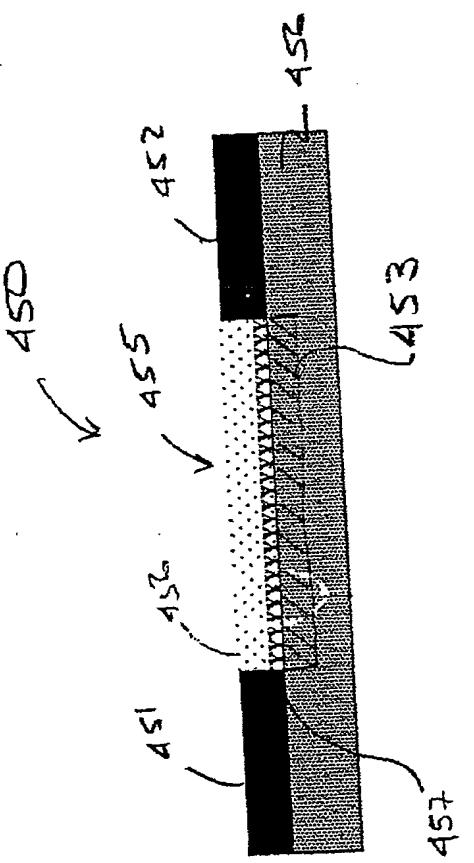


Fig 4D

【図4E】

Fig. 4E.



【図5】

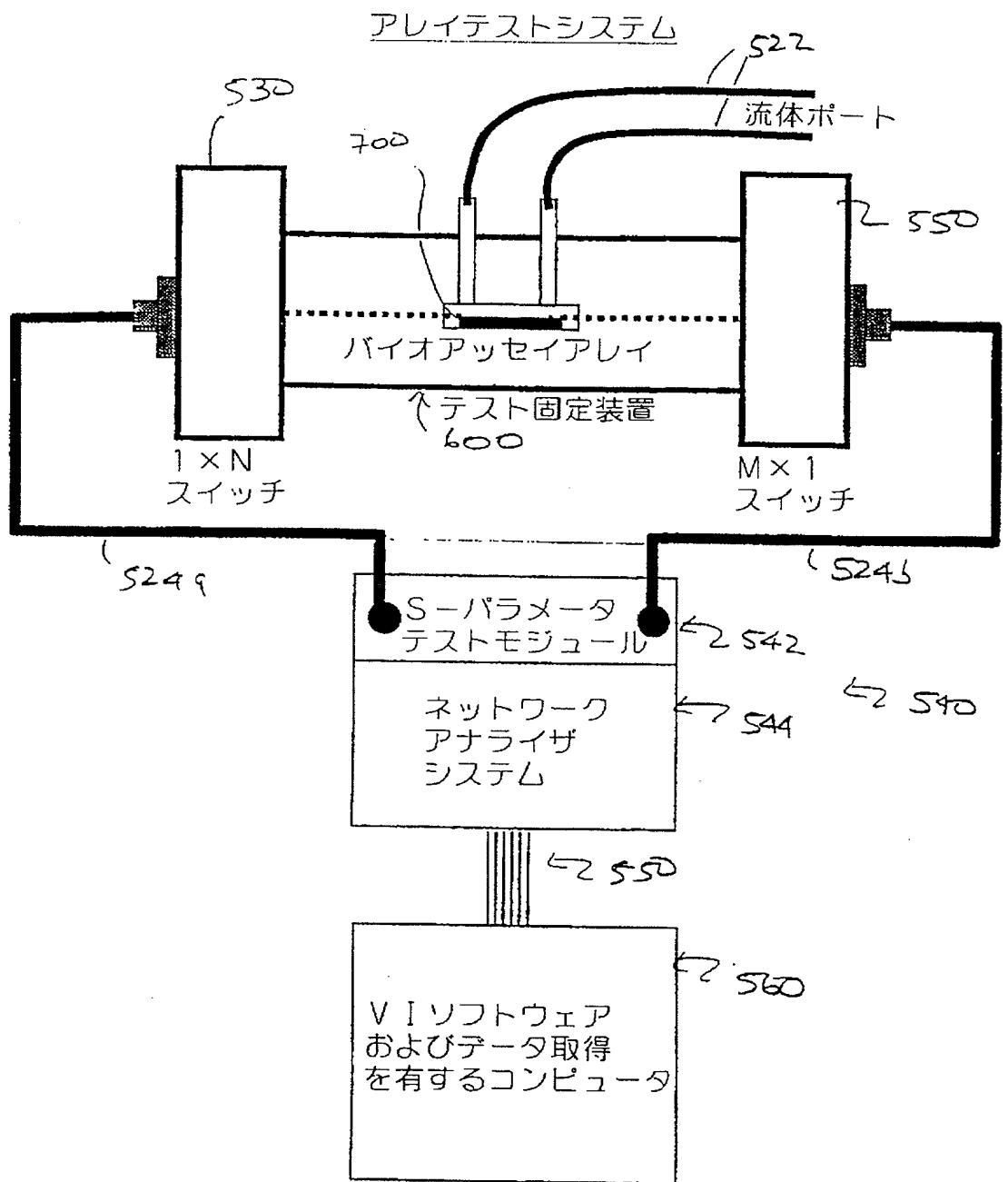
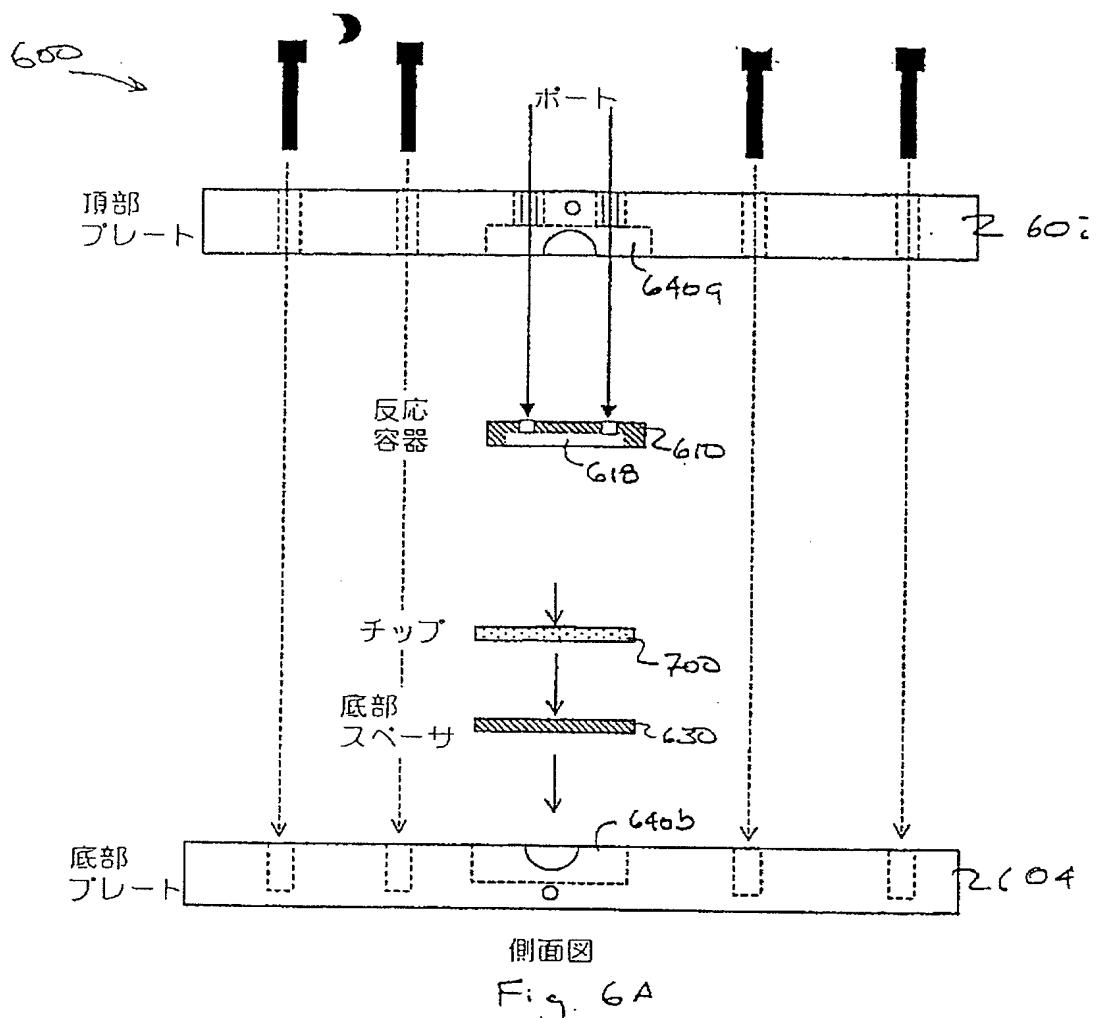
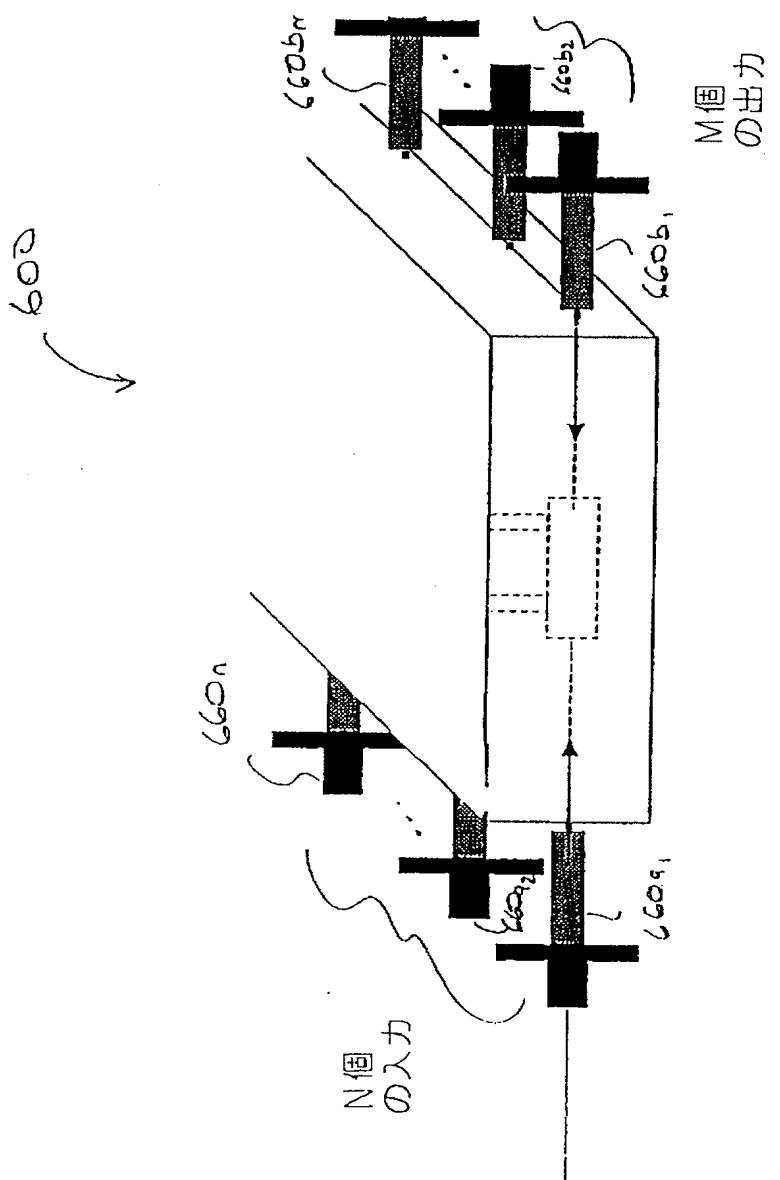


Fig. 5

【図6A】



【図6B】



【図7A】

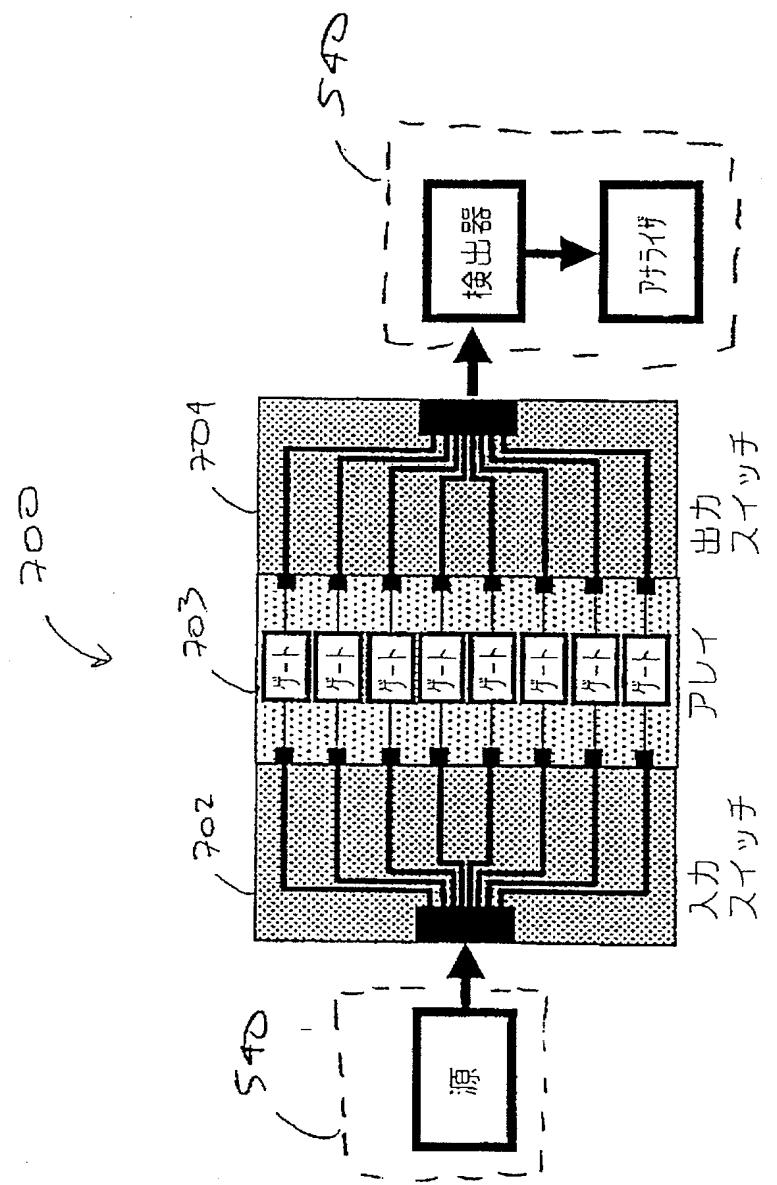


Fig. 7A

【図7B】

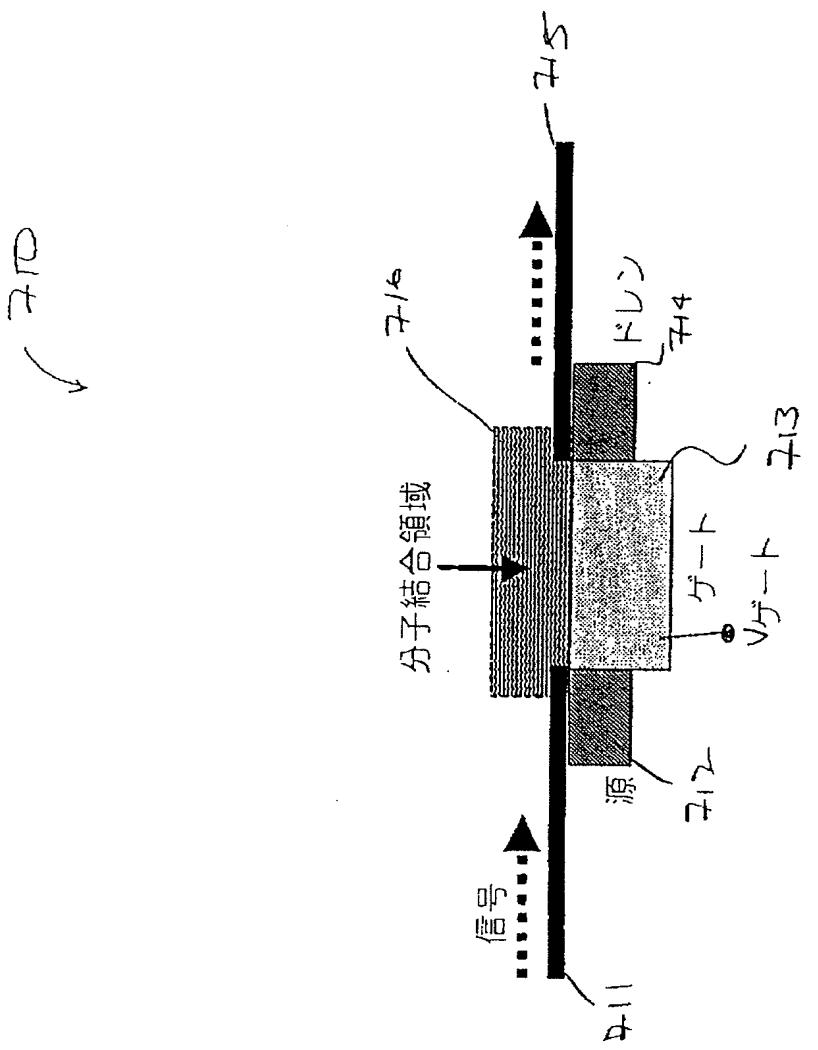


Fig. 7B

【図7C】

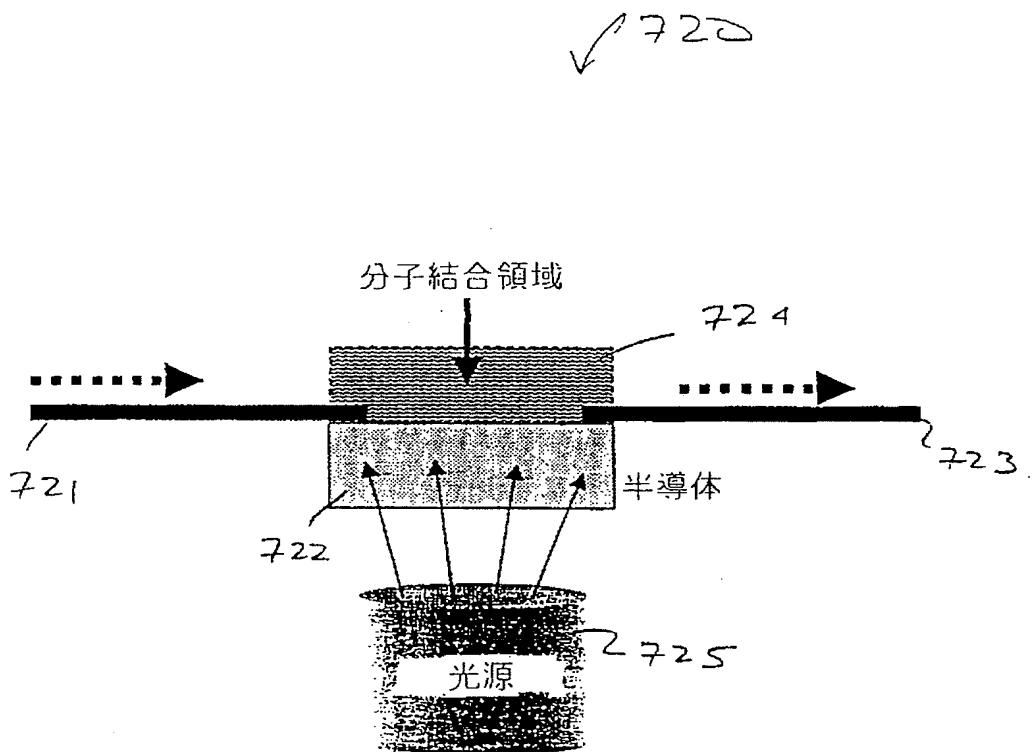


Fig. 7C

【図7D】

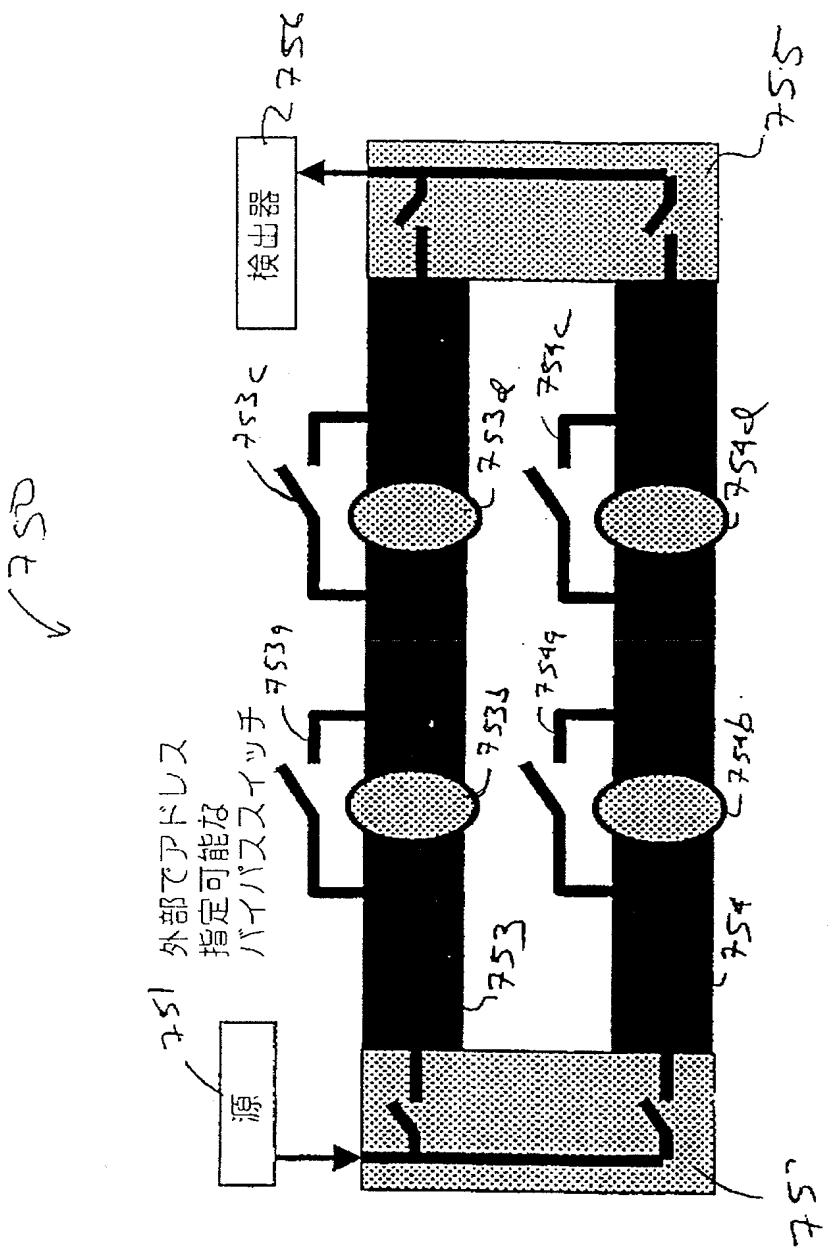
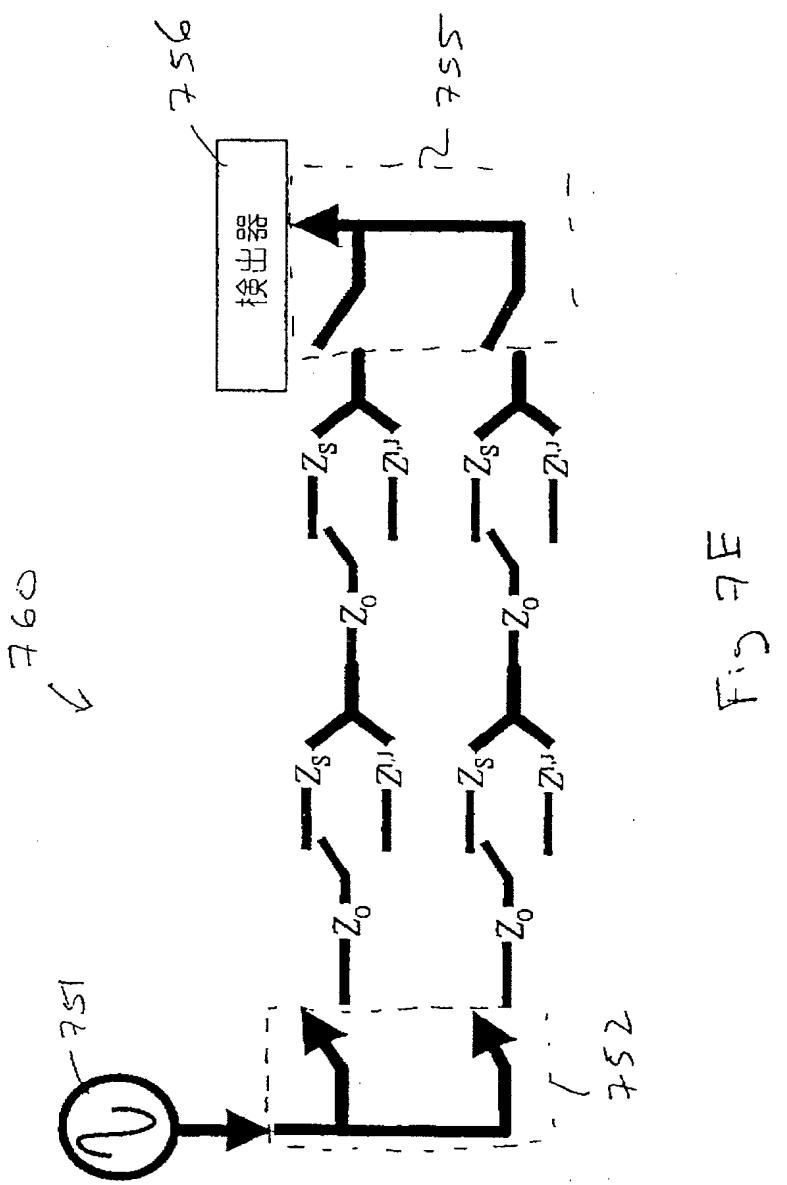
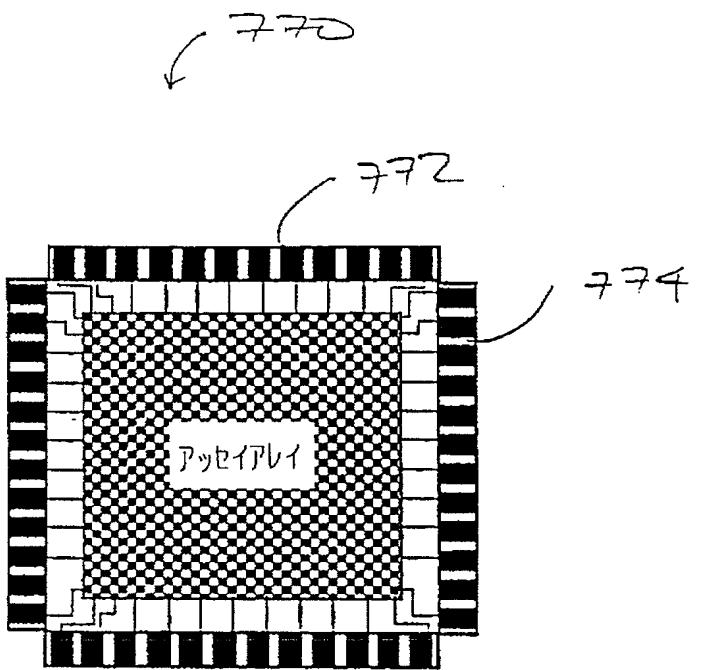


Fig. 7D

【図7E】

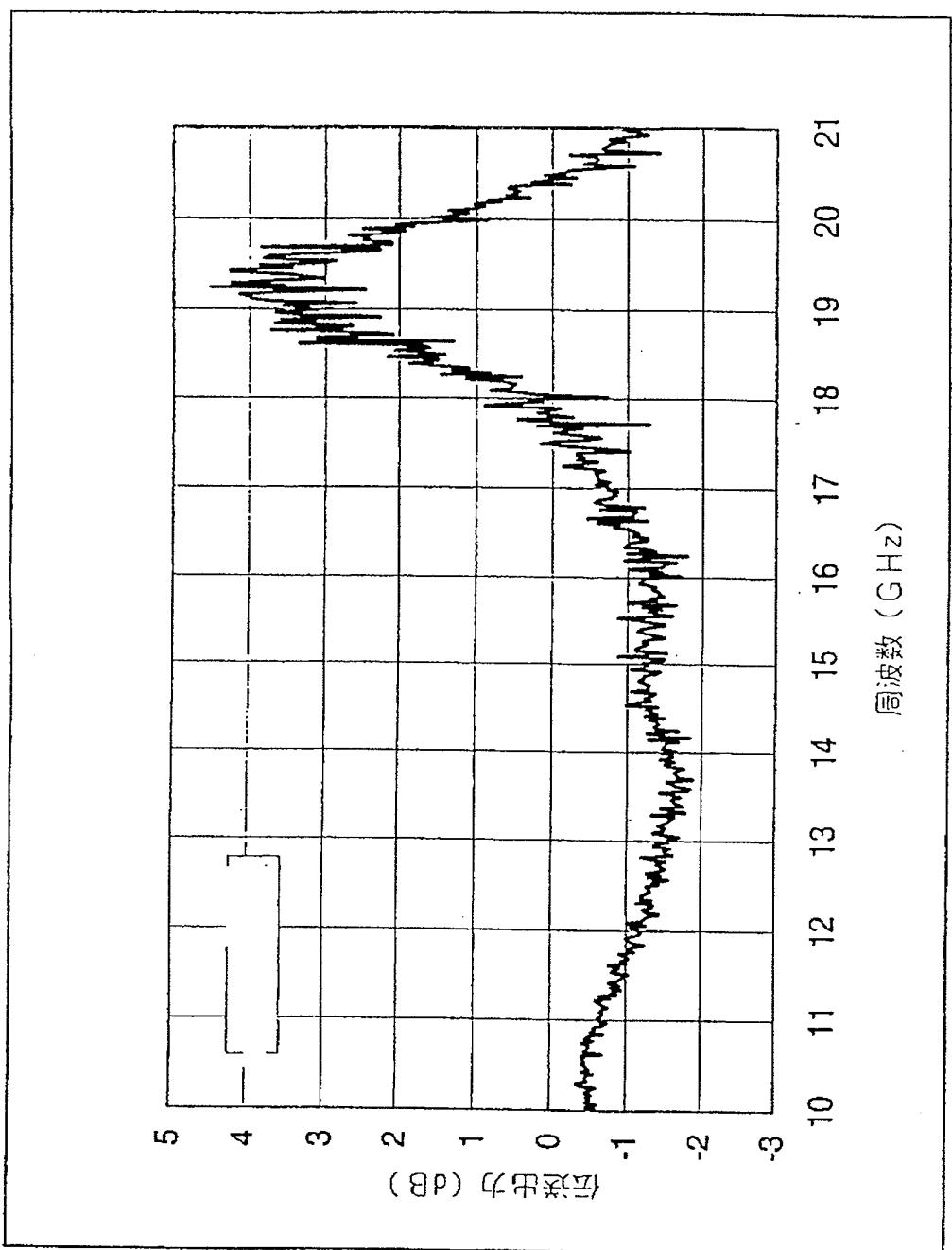


【図7F】



F. 7 F

【図8】



【手続補正書】特許協力条約第34条補正の翻訳文提出書

【提出日】平成13年3月5日(2001.3.5)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】特許請求の範囲

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】バイオアッセイテストシステムであって、

バイオアッセイテストシステムが、テスト固定装置を有しており、

該テスト固定装置が、多ポート信号経路から成るバイオアッセイデバイスを有しており、多ポート信号経路が少なくとも1つの入力ポートと少なくとも1つの出力ポートを有しており、多ポート信号経路が、

少なくとも1つの入力ポートと少なくとも1つの出力ポートとの間に接続された伝送ラインと；

接地素子と；

伝送ラインと接地素子との間に延びる誘電性支持体と

を有しており、

テスト固定装置が、多ポート信号経路に近接するサンプルの容積を保持するようにされたサンプルキャビティを有しており、これにより、多ポート信号経路に沿って伝搬する入力テスト信号が、サンプルと電磁的にカップリングされるようになっており；さらに、

テスト固定装置が、サンプルキャビティにサンプルを供給するためにサンプルキャビティに取り付けられた少なくとも1つのフィード管を有しており、

バイオアッセイテストシステムが、測定システムを有しており、該測定システムが、多ポート信号経路の少なくとも1つの入力に接続された出力と、多ポート信号経路の少なくとも1つの出力に接続された入力とを有しており、測定システムが、1つまたは複数の予め決められた周波数で、多ポート信号経路へ入力テスト信号を伝送し、多ポート信号経路から、変調されたテスト信号を受け取るよう

にされており；さらに、

バイオアッセイテストシステムが、測定システムに接続されたコンピュータを有しており、該コンピュータが、測定システムが入力テスト信号を伝送して、変調されたテスト信号を受け取るのを制御するように形成されていることを特徴とする、バイオアッセイテストシステム。

【請求項2】 測定システムが、ベクトルネットワークアナライザを有しており、該ベクトルネットワークアナライザが、受け取られたテスト信号の大きさおよび位相特性を、入力テスト信号の大きさおよび位相特性と比較するようにされている、請求項1記載のバイオアッセイテストシステム。

【請求項3】 入力テスト信号が、5Hz～300MHzの範囲内にある信号を含む、請求項2記載のバイオアッセイテストシステム。

【請求項4】 入力テスト信号が、45MHz～40GHzの範囲内にある信号を含む、請求項2記載のバイオアッセイテストシステム。

【請求項5】 入力テスト信号が、33GHz～110GHzの範囲内にある信号を含む、請求項2記載のバイオアッセイテストシステム。

【請求項8】 多ポート信号経路がリング共鳴器回路を有している、請求項2記載のバイオアッセイテストシステム。

【請求項9】 多ポート信号経路が容量型ギャップ回路を有している、請求項2記載のバイオアッセイテストシステム。

【請求項10】 多ポート信号経路が誘電性信号経路を有している、請求項2記載のバイオアッセイテストシステム。

【請求項11】 バイオアッセイテストシステムがさらに、信号経路の一部の周りで解離可能に圧縮されたOリングを有しており、該Oリングが、多ポート信号経路と接触するサンプルを保持するようにされている、請求項2記載のバイオアッセイテストシステム。

【請求項12】 バイオアッセイテストシステムがさらに、測定システムと多ポート信号経路の少なくとも1つの入力ポートとの間に接続された入力コネクタと；

測定システムと多ポート信号経路の少なくとも1つの出力ポートとの間に接続

された出力コネクタと
を有している、請求項2記載のバイオアッセイテストシステム。

【請求項13】 バイオアッセイアレイテストシステムであって、
バイオアッセイアレイテストシステムが、テスト固定装置を有しており、
該テスト固定装置が、複数の多ポート信号経路から成るバイオアッセイデ
バイスを有しており、それぞれの多ポート信号経路が少なくとも1つの入力ポー
トと少なくとも1つの出力ポートを有しており、多ポート信号経路が、
少なくとも1つの入力ポートと少なくとも1つの出力ポートとの間
に接続された伝送ラインと；

接地素子と；
伝送ラインと接地素子との間に延びる誘電性支持体と
を有しており、

テスト固定装置が、複数のサンプルキャビティを有しており、該サンプル
キャビティのそれぞれが、前記複数の多ポート信号経路のうちの少なくとも1つ
に近接するサンプルの容積を保持するようにされており、これにより、少なくと
も1つの多ポート信号経路に沿って伝搬する入力テスト信号が、近接して配置さ
れたサンプルと電磁的にカップリングされるようになっており；さらに、

テスト固定装置が、サンプルキャビティにサンプルを供給するために複数
のサンプルキャビティのそれぞれに取り付けられた少なくとも1つのフィード管
を有しており、

バイオアッセイアレイテストシステムが、測定システムを有しており、該測定
システムが、多ポート信号経路の少なくとも1つの入力に接続された出力と、多
ポート信号経路の少なくとも1つの出力に接続された入力とを有しており、測定
システムが、1つまたは複数の予め決められた周波数で、複数の多ポート信号経
路のうちの1つまたは複数へ入力テスト信号を伝送し、複数の多ポート信号経路
のうちの1つまたは複数から、変調されたテスト信号を受け取るようにされてお
り；さらに、

バイオアッセイアレイテストシステムが、測定システムに接続されたコンピュ
ータを有しており、該コンピュータが、測定システムが入力テスト信号を伝送し

て、変調されたテスト信号を受け取るのを制御するようにされていることを特徴とする、バイオアッセイアレイテストシステム。

【請求項14】 測定システムが1つの出力ポートと、1つの入力ポートとを有しており、バイオアッセイアレイが、複数の多ポート信号経路に接続された第1の複数の入力ポートと、複数の多ポート信号経路に接続された第2の複数の出力ポートとを有しており、バイオアッセイシステムがさらに：

測定システム出力ポートに接続された入力と、第1の複数の多ポート信号経路入力ポートに接続された出力とを有する入力スイッチと；

第2の複数の多ポート信号経路出力ポートに接続された入力と、測定システム入力ポートに接続された出力とを有する出力スイッチと
を有している、請求項13記載のバイオアッセイアレイテストシステム。

【請求項17】 複数の多ポート信号経路の少なくとも1つが、リング共鳴器回路を有している、請求項13記載のバイオアッセイアレイテストシステム。

【請求項18】 複数の多ポート信号経路の少なくとも1つが、容量型ギャップ回路を有している、請求項13記載のバイオアッセイアレイテストシステム。

【請求項19】 複数の多ポート信号経路の少なくとも1つが、誘電性信号経路を有している、請求項13記載のバイオアッセイアレイテストシステム。

【請求項20】 多ポート信号経路の少なくとも1つが、電子切換式のトランジスタを有している、請求項13記載のバイオアッセイアレイテストシステム。

【請求項21】 複数の多ポート信号経路の少なくとも1つが、光切換式のトランジスタを有している、請求項13記載のバイオアッセイアレイテストシステム。

【請求項22】 入力テスト信号が、5Hz～300MHzの範囲内にある信号を含む、請求項13記載のバイオアッセイアレイテストシステム。

【請求項23】 入力テスト信号が、45MHz～40GHzの範囲内にある信号を含む、請求項13記載のバイオアッセイアレイテストシステム。

【請求項24】 入力テスト信号が、30GHz～110GHzの範囲内に

ある信号を含む、請求項13記載のバイオアッセイアレイテストシステム。

【請求項25】 バイオアッセイデバイスであって、

該バイオアッセイデバイスが、少なくとも1つの入力ポートと少なくとも1つの出力ポートとを有する多ポート信号経路を有しており、該多ポート信号経路が；

少なくとも1つの入力ポートと少なくとも1つの出力ポートとの間に接続された伝送ラインと；

接地素子と；

伝送ラインと接地素子との間に延びる誘電性支持体とを有しており、

バイオアッセイデバイスが、多ポート信号経路に近接するサンプルの容積を保持するように形成されたサンプルキャビティを有しており、これにより、多ポート信号経路に沿って伝搬する入力テスト信号が、サンプルと電磁的にカップリングされるようになっており；さらに、

バイオアッセイデバイスが、サンプルキャビティにサンプルを供給するためにサンプルキャビティに取り付けられた少なくとも1つのフィード管を有していることを特徴とする、バイオアッセイデバイス。

【請求項28】 多ポート信号経路が共鳴キャビティ回路を有している、請求項25記載のバイオアッセイデバイス。

【請求項29】 多ポート信号経路が容量型ギャップ回路を有している、請求項25記載のバイオアッセイデバイス。

【請求項30】 多ポート信号経路が誘電性信号経路を有している、請求項25記載のバイオアッセイデバイス。

【請求項31】 バイオアッセイアレイデバイスであって、

該バイオアッセイアレイデバイスが、複数の多ポート信号経路を有しており、それぞれの多ポート信号経路が、少なくとも1つの入力ポートと少なくとも1つの出力ポートとを有しており、多ポート信号経路が、

少なくとも1つの入力ポートと少なくとも1つの出力ポートとの間に接続された伝送ラインと；

接地素子と；

伝送ラインと接地素子との間に延びる誘電性支持体と
から成っており、

バイオアッセイアレイデバイスが、それぞれ複数のサンプルキャビティを有してお
り、該サンプルキャビティのそれぞれが、前記複数の多ポート信号経路のうちの少
なくとも1つに近接するサンプルの容積を保持するように形成されており
、これにより、前記少なくとも1つの多ポート信号経路に沿って伝搬する入力テ
スト信号が、近接して配置されたサンプルと電磁的にカップリングされるよう
なっており；さらに、

バイオアッセイアレイデバイスが、サンプルキャビティにサンプルを供給する
ために複数のサンプルキャビティのそれぞれに取り付けられた少なくとも1つの
フィード管を有している

ことを特徴とする、バイオアッセイアレイデバイス。

【請求項32】 各多ポート信号経路が、電子切換式のトランジスタを有して
いる、請求項31記載のバイオアッセイアレイデバイス。

【請求項33】 各多ポート信号経路が、光切換式のトランジスタを有して
いる、請求項31記載のバイオアッセイアレイデバイス。

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.
PCT/US 00/20470

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 GO1N22/00 GO1N33/543

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 GO1N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 5 858 666 A (WEISS PAUL S) 12 January 1999 (1999-01-12) column 4; claims 1,6,11,14 ---	1-3,13, 25,31 14
A	US 5 563 939 A (LA PORTA THOMAS F ET AL) 8 October 1996 (1996-10-08) cited in the application column 6 -column 7; claims 1,19 ---	1,13,25, 31
A	US 5 846 708 A (KOSICKI BERNARD B ET AL) 8 December 1998 (1998-12-08) cited in the application abstract ---	1,13,25, 31 -/-

Further documents are listed in the continuation of box C.

Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

T later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

X document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

Y document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

& document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
18 September 2001	25/09/2001
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5618 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel: (+31-70) 340-2040, Tx: 31 651 epo nl Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer Huine, S

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1992)

page-1 of 2 ..

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/US 00/20470

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P, A	<p>WO 99 39190 A (HEFTI JOHN ;SIGNATURE BIOSCIENCE INC (US)) 5 August 1999 (1999-08-05) cited in the application abstract</p> <p>-----</p>	1, 13, 25, 31
1		

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (July 1992)

page 2 of 2

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No
PCT/US 00/20470

Patent document cited in search report		Publication date		Patent family member(s)		Publication date
US 5858666	A	12-01-1999	AU WO	3908497 A 9809168 A1	19-03-1998 05-03-1998	
US 5563939	A	08-10-1996	AU AU BR CA CN CZ EP HU JP NZ PL SG	701343 B2 7918294 A 9404880 A 2118353 A1 1115929 A 9403037 A3 0658061 A2 71561 A2 7203023 A 270052 A 306176 A1 73954 A1	28-01-1999 15-06-1995 08-08-1995 10-06-1995 31-01-1996 14-06-1995 14-06-1995 28-12-1995 04-08-1995 26-11-1996 12-06-1995 18-07-2000	
US 5846708	A	08-12-1998	EP JP WO US AT DE DE EP JP US US US	0638173 A1 7508831 T 9322678 A2 5653939 A 176324 T 69228291 D1 69228291 T2 0543550 A1 5322817 A 5532128 A 5670322 A 5891630 A	15-02-1995 28-09-1995 11-11-1993 05-08-1997 15-02-1999 11-03-1999 02-06-1999 26-05-1993 07-12-1993 02-07-1996 23-09-1997 06-04-1999	
WO 9939190	A	05-08-1999	AU CN EP GB NO WO	2490699 A 1292087 T 0991938 A1 2342176 A ,B 20003911 A 9939190 A1	16-08-1999 18-04-2001 12-04-2000 05-04-2000 29-09-2000 05-08-1999	

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (July 1992)

フロントページの続き

(81)指定国 E P (A T, B E, C H, C Y,
D E, D K, E S, F I, F R, G B, G R, I E, I
T, L U, M C, N L, P T, S E), O A (B F, B J
, C F, C G, C I, C M, G A, G N, G W, M L,
M R, N E, S N, T D, T G), A P (G H, G M, K
E, L S, M W, M Z, S D, S L, S Z, T Z, U G
, Z W), E A (A M, A Z, B Y, K G, K Z, M D,
R U, T J, T M), A E, A G, A L, A M, A T,
A U, A Z, B A, B B, B G, B R, B Y, B Z, C
A, C H, C N, C R, C U, C Z, D E, D K, D M
, D Z, E E, E S, F I, G B, G D, G E, G H,
G M, H R, H U, I D, I L, I N, I S, J P, K
E, K G, K P, K R, K Z, L C, L K, L R, L S
, L T, L U, L V, M A, M D, M G, M K, M N,
M W, M X, M Z, N O, N Z, P L, P T, R O, R
U, S D, S E, S G, S I, S K, S L, T J, T M
, T R, T T, T Z, U A, U G, U Z, V N, Y U,
Z A, Z W